MEMORIAS
DO
INSTITUTO OSWALDO CRUZ

Tomo XXIV Setembro—1930 Fasciculo 2

Evolução dos gametos do Plasmodium falciparum (*)

(Nota preliminar)

pelo

DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

(*Chefe de Serviço*)

(Com a estampa XIX)

A evolução dos gametos do *Plasmodium falciparum* é um problema de parasitologia ainda não completamente esclarecido, máo grado os numerosos trabalhos já feitos sobre o assumpto, por varios auctores, entre os quaes se podem citar Watson [1], Maurer [2], Von der Borne [3], Perekropow [4], Swellengrebel [5], Thomson [6], etc. e mais recentemente Ioff [7]. Em grande parte se deve esta escassez de conhecimentos sobre a evolução das fórmas sexuadas do *Plasmodium falciparum* á condição peculiar da sua biologia que leva este hematozoario a preferir os orgãos centraes para

(*) Recebido para publicação a 30 de Junho de 1930.

1 Watson, L. 1903, The Journal of Trop. Med., vol. 6, pag. 221.
2 Maurer, G. 1902, Zentralblatt für Bakteriol. Orig., v. 32, pag. 695.
3 v. Der Borne, C. 1907, Archiv. f. Schiffs-und Trvpenhygiene.
4 Perekropow, G., 1914, Archiv. für Protistenkunde, vol. 35, pag. 139.
5 Swellengrebel, N., 1913, Zentralblat für Bakteriologie, vol. 70, pag. 179.
6 Thomson, D., 1913, Ann. of Trop. Med., pag. 85.
7 Ioff, I., 1930, Zentralblatt für Bakteriologie, Vol. 116, pag. 225.

nelle se desenvolver tanto na sua phase schizogonica como na gametogenica. Decorre disso que normalmente só se encontrem no sangue peripherico dos doentes atacados por esse hematozoario ou fórmas jovens do parasito, os anneis, ou apenas gametos adultos. Nas infecções graves, em que a abundancia de parasitos nos orgãos centraes se torna muito grande, é que succede a passagem das differentes fórmas da phase sexuada do parasito para o sangue peripherico. Serve assim de indice seguro da gravidade do caso o apparecimento de taes fórmas na peripheria e tão depressa o doente melhora logo ellas dahi desapparecem. Em geral, porém, mesmo em taes casos, ellas não são extremamente abundantes. A esse tão accentuado splanchnotropismo do hematozoario da febre tropical se deve, em grande parte ainda permanecer incompleto o conhecimento de sua evolução.

Desejando estudar o assumpto, nos pareceu logico procurar o hematozoario nos seus fócos de predilecção, nos orgãos, e de preferencia no individuo vivo pois que, no cadaver, o parasito rapidamente se altera e se apresenta com a morphologia modificada, mesmo nas autopsias recentes como tivemos repetida occasião de observar e se pode ver no trabalho de Thomson acima citado. Até mesmo no material colhido em doentes em coma, os hematozoarios já apparecem, ás vezes, bastante modificados.

Mereceu nossa preferencia para o estudo do hematozoario da febre tropical, o baço, por ser um dos orgãos de maior predilecção do parasito e pela relativa facilidade de accesso.

Havia a objecção do perigo de taes punccões, mas a esse respeito não tivemos, até agora, nenhum accidente desagradavel e isso devido a pericia com que as têm executado o nosso distincto collega e amigo Dr. Sylvio Moniz em cuja enfermaria, na Santa Casa do Rio de Janeiro, sempre encontramos a melhor acolhida, sendo nella feito grande parte deste trabalho. Até agora foram ahi punccionados cerca de 15 doentes sem nenhum inconveniente. E' com todo o prazer que deixamos aqui consignados os nossos mais sinceros agradecimentos ao Dr. Sylvio Moniz e a todos os seus assistentes, especialmente aos Drs. Dario Pinto e Dr. Dauro Mendes pelo valioso auxilio e grande interesse prestados ás pesquizas que realizamos na 9ª. enfermaria.

A punccão do baço nem sempre é efficaz sob o ponto de vista parasitologico, pois ás vezes dá mais sangue do que polpa do orgão propriamente dita que é o material ideal para os frottis quando nelle existem as desejadas fórmas de evolução do parasita. Frequentemente, nos casos agudos recentes, as punccões do baço dão apenas fórmas schizogonicas e, outras vezes sómente crescentes muito desenvolvidas, em certos

casos porém, se encontram no orgão, em profusão, as mais variadas fórmas de evolução dos gametos. Foram estes casos que permittiram a seriação de parasitos que apresentamos neste trabalho e que a nosso vêr representam muitas das phases da evolução dos gametos de ambos os sexos do *Plasmodium falciparum*.

Os preparados de material do baço devem ser feitos, tão depressa quanto possivel, após a punccção do orgão com a agulha e aspiração do material com seringa. Obtida um pouco de polpa, são feitos com ella os esfregaços tendo-se o cuidado de não exercer pressão nem fricção violenta no material, para não deformar os hematozoarios nelle existentes.

Deve-se cuidar que o material fique secco rapidamente e, uma vez isso conseguido, são as laminas fixadas pelo alcool absoluto e depois coradas pelo Giemsa usando nós 3 gottas de corante para cada centimetro cubico de agua. Desta fórma ao cabo de 1 hora se tem um preparado perfeitamente corado tanto em relação aos parasitos como ás cellulas. Os preparados seccos, fixados pelo alcool e corados pelo Giemsa são os que dão melhores aspectos aos parasitos. A fixação humida não é absolutamente recommendada para estas pesquizas. O exame destes frottis de baço comparado com os de sangue peripherico dos mesmos doentes e de outros, nos permittiram grupar algumas das differentes phases de evolução dos gametos do *Plasmodium falciparum*, de modo a dar de sua evolução e variações morphologicas, um esboço que se nos afigura bastante approximado da realidade e que esperamos sirva de schema para ulteriores pesquizas sobre o assumpto.

A seguir passamos a descrever a evolução dos gametos masculinos e femininos do *Plasmodium falciparum* de accôrdo com o resultado do exame de nossas preparações e o modo porque as interpretamos.

EVOLUÇÃO DOS GAMETOS MACHOS

As menores fórmas de evolução destes gametos são, a nosso vêr, constituidas pelos pequenos hematozoarios arredondados, sem prolongamentos ameboides, que se encontram no baço. Seu aspecto é o de pequenos parasitos arredondados, sem vacuolo nutritivo com protoplasma homogeneo corando-se em azul pelo Giemsa e com uma massa de chromatina um tanto grande, unica e de colorido vermelho rubi. Estas fórmas não têm ás vezes mais de 2 μ de diametro (Est. XIX, fig. 1).

Fórmas mais adeantadas do que estas attingem a 3 μ apresentando a chromatina fragmentada e agglomerada num ponto. Já se notam no

seu protoplasma começo de formação de pigmento (Est. XIX, fig. 2). Em phase de evolução mais adiantada do parasito elles se apresentam um pouco maiores que os precedentes e com a chromatina mais ou menos abundante, fragmentada ou não e disposta ora na peripheria ora no interior do corpo do hematozoario, em posição variavel, e com aspectos diversos. O pigmento apparece então muito abundante e disseminado pelo protoplasma do hematozoario sem nenhuma localisação especial nem tendencia a agglomeração. O protoplasma se apresenta azul sem vacuolos e o parasito tem uma fórma arredondada ou ligeiramente alongada e augmenta sensivelmente de volume, podendo attingir a 4 a 5 μ de diametro.

Daqui em deante o futuro gameto macho começa a tomar uma fórma alongada, ovoide ou elyptica. A chromatina se fragmenta e se espalha pelo protoplasma tanto na peripheria como na zona central delle. O pigmento, ainda mais abundante e com fórma de granulos ou de pequenos bastonetes de côr parda amarellada, se apresenta tambem disseminado pelo protoplasma. O parasito nesta phase tem maior volume do que nos periodos anteriores (Est. XIX, figs. 8 e 9).

Em seguida o parasito começa a tomar a fórma distincta de crescente. A principio elle se alonga e toma a fórma de uma elipse com o comprimento duplo da largura. O protoplasma apresenta-se corado em azul claro muito regularmente contornado e sem vacuolos de especie alguma. A chromatina sempre fragmentada se apresenta agglomerada numa zona qualquer do protoplasma. O pigmento com o aspecto já descripto é visto na porção do protoplasma não occupada pelo nucleo (Est. XIX, fig. 10).

Começa então o gameto masculino a se encurvar ligeiramente esboçando-se pela primeira vez nelle a fórma em crescente. Este ainda é bastante pequeno e occupa o interior do globulo. Quanto ao protoplasma, á chromatina e ao pigmento elles mantêm os mesmos caracteristicos da phase anterior (Est. XIX, fig. 12).

Finalmente o crescente se desenvolve, toma a sua fórma typica e distende o globulo vermelho do qual então só uma parte apparece na sua concavidade. O gameto macho typico e completamente desenvolvido se apresenta com o aspecto de crescente ou chouriço encurvado de 9 a 12 μ de comprimento e tem as extremidades grossas. Seu protoplasma é azul claro e no interior delle se vê a chromatina fragmentada e disseminada, salvo nas extremidades e de permeio a chromatina se vê o pigmento do gameto. Este gameto por sua fórma mais curta e espessa, pelo protoplasma mais claro e pela distribuição

seminada do pigmento e da chromatina se distingue perfeitamente do gameto femea (Est. XIX, fig. 12).

EVOLUÇÃO DO GAMETO FEMEA

A evolução do gameto feminino é muito caracteristica e em diversos pontos bastante differente do crescente masculino. As fórmas mais jovens do crescente femea se apresentam com o aspecto de faixas longas e delgadas que não são raras em certos casos de paludismo tropical, tanto nos orgãos como mesmo no sangue peripherico. Estas fórmas já têm sido frequentemente vistas, representadas por diversos auctores que, no entanto, não as relacionaram com a evolução sexuada do *Plasmodium falciparum*. Ellas se dispõem sob a fórma de longas faixas delgadas que atravessam o globulo de uma borda a outra, dividindo-o ás vezes, em metades sensivelmente eguaes. Estas faixas embora mais finas lembram, no entanto, pela disposição, as faixas equatoriaes do hematozoario da quartã. Podem ser vistas nos preparados a fresco com seu aspecto caracteristico e, quando coradas, se mostram constituidas por um delgado filamento regular de protoplasma, sem prolongamento algum pseudopodico e tendo, na parte média ou numa das extremidades, uma porção de chromatina alongada ou arredondada (Est. XIX, figs. 13 a 15). Aos poucos estas fórmas do parasito se espessam, conservando porém sua morphologia primitiva. (Est. XIX, fig. 16). Nas fórmas jovens ainda não ha pigmento, desde porém que o hematozoario se torna um pouco mais volumoso começa a se notar, no seu protoplasma, o apparecimento deste com o aspecto de finos granulos (Est. XIX, fig. 17).

Em phase mais adiantada de sua evolução o parasito se apresenta alongado, fusiforme, mais rico de pigmento que apparece então disseminado pelo protoplasma. A chromatina é vista como uma massa num ponto do protoplasma do gameta e é menos compacta do que nas fórmas anteriores (Est. XIX, fig. 18). Wenyon [8] no seu tratado de prozoologia representa uma fórma que lembra a que aqui figuramos.

O gameto continuando a se desenvolver perde a fórma em fuso regular e apresenta uma das bordas relativamente recta ao passo que a outra se encurva para fóra. A chromatina torna-se mais abundante e começa a se fragmentar ao passo que o pigmento, sob a fórma de granulos ou pequenos fragmentos pardo-escuros ou amarellados, apparece disseminado por todo o parasito. Estas fórmas crescem até tomar cerca de me-

---

[8] Wenyon C. M. 1926. Protozoology.

tade do globulo vermelho que até então, não se apresenta deformado (Est. XIX, figs. 17 a 24).

Daqui em deante nota-se que o gameto feminino principia a se alongar fortemente e o globulo o acompanha deformando-se tambem. As extremidades do parasito se tornam agudas e elle se apresenta com um tamanho e largura duplos das fórmas anteriores (Est. XIX, figs. 16 e 24), podendo attingir a 13 a 15 μ. Toma então o gameto feminino a fórma muito caracteristica de um fuso alongado ou de charuto já vistas por differentes auctores e para as quaes novamente chama a attenção Ioff, sem lhes dar uma interpretação precisa. O protoplasma do gameto se apresenta em todas estas fórmas homogeneo corado em azul, ao passo que o pigmento apparece disseminado e a chromatina mostra já tendencia a se condensar e se approximar da parte central do parasito (Est. XIX, figs. 25 a 28).

Continuando a evolução observa-se no gameto que se tinha alongado muito, até então, a tendencia para se encurvar e tomar a futura fórma em crescente. O pigmento continua ainda disperso e a chromatina mais condensada desloca-se para a parte média do gameto (Est. XIX, fig. 29).

Progredindo ainda mais o desenvolvimento do crescente accentua-se o curvamento delle e sua concavidade passa a ser então occupada pela parte livre do globulo vermelho. A chromatina se reune na parte média do crescente e nota-se que, em torno della, começa a vir se agglomerar o pigmento até aqui disperso por todo o protoplasma do gameto. A fórma em crescente com as extremidades finas e o protoplasma azul intenso se caracterisa do modo o mais evidente (Est. XIX, figs. 30 e 31).

Finalmente o gameto se encurva ainda mais e assim se vae accentuando a fórma typica de crescente femea com as extremidades finas. Na sua concavidade permanece a porção livre o globulo vermelho que elle parasita e o pigmento se condensa definitivamente em torno da chromatina collocada na parte central do parasito. O protoplasma têm a côr azul muito mais intensa que o do gameto macho e se apresenta livre de quaesquer vacuolos e granulações, salvo as de pigmento. O crescente femea é sempre bem limitado e regular nos seus contornos e mede 12 a 14 μ de comprimento por 2 a 3 μ de largura na parte média.

Tomando o parasito o aspecto que acabamos de descrever completa-se a evolução do gameto femea que é toda ella bastante interessante, caracteristica e bem differente do que succede á fórma masculina.

Merecem aqui ainda menção algumas fórmas curiosas de crescentes

que tivemos ocasião de reparar no decurso de nossas pesquizas em frottis de baço de doentes de paludismo tropical.

Nos preparados não são raros as já conhecidas fórmas de dous crescentes num mesmo globulo como o documentam as figuras juntas (Est. XIX, figs. 33 a 35) em que apenas procuramos assignalar fórmas jovens desses crescentes duplos, ainda com o pigmento disperso, pois as adultas já são bem conhecidas.

Além destas fórmas queremos aqui deixar assignaladas outras sobre as quaes é difficil dar uma interpretação segura e que se acham representadas nas figs. 36 a 40 da est. XIX. Taes fórmas são evidentemente fórmas de evolução de gametos femeas mas em que os parasitos apresentam ao longo de uma das bordas uma faixa vermelha muito regular, mas não sabemos bem se isso constitue formação especial pela sua regularidade ou se um simples deposito de material corante devido a uma alteração ou degeneração do hematozoario. Estas fórmas bizarras dos gametos da febre tropical se apresentaram, nos casos em que as observamos, misturadas a fórmas communs e normaes.

A fig. 41 da estampa XIX representa tambem uma fórma curiosa de gameto masculino em que observamos um excessivo augmento da chromatina e a figura 42 da mesma estampa um gameto arredondado encontrado num frottis de baço onde elles em geral são muito raros.

As differentes fórmas dos gametos masculinos e femininos do hematozoario da febre tropical de *Plasmodium falciparum* acima descriptas representam, a nosso vêr, apenas um esboço da evolução desses parasitos para o qual chamamos a attenção daquelles que se dedicam a estudos parasitologicos sobre paludismo, esperando que, uma observação mais aprofundada do assumpto, possa vir a esclarecel-o definitivamente.

Antes de terminar queriamos assignalar que, como outros auctores, tambem verificamos nos frottis de baço a phagocytose de hematozoarios por leucocytos polynucleares mas o que notamos, a mais, é que taes leucocytos apenas englobam fórmas de divisão do hematozoario ou fórmas muito jovens e nunca fórmas schizogonicas ou gametos desenvolvidos.

Rio, 30/VI/930.

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA XIX.

Evolução dos gametos do *Plasmodium falciparum*.

Figs. 1 e 2 —Fórmas muito jovens dos gametos machos.
Figs. 3 a 8 — Fórmas diversas da evolução dos mesmos gametos.
Figs. 9 e 10 —Fórmas de gametos machos em começo de alongamento.

Fig. 11 —Gameto macho começando a encurvar-se.
Fig. 12 —Gameto macho completamente desenvolvido.
Figs. 13 a 16 —Fórmas muito jovens em faixa estreita do gameto femea do *Plasmodium falciparum*.
Figs. 17 e 18 —Fórmas em faixa mais larga dos mesmos gametos.
Figs. 19 a 24 —Fórmas successivas da evolução do gameto femea no interior do globulo vermelho antes de se alongar.
Fig. 25 —Começo do alongamento do gameto femea.
Figs. 26 á 28 —Gametos femeas alongados com a fórma de charuto.
Fig. 29 —Começo do encurvamento do gameto femea ainda com o pigmento disseminado.
Fig. 30 —Encurvamento do gameto femea e concentração do pigmento na parte mediana delle.
Figs. 31 e 32 —Gameto femea completamente desenvolvido.
Figs. 33 a 35 —Duplicidade de gametos femeas no mesmo globulo vermelho.
Figs. 36 a 40 —Gametos femeas com uma faixa vermelha num dos bordos.
Figs. 41 e 42 —Gameto macho com a chromatina extremamente desenvolvida, e uma fórma redonda de um gameto.

Desenhos feitos a altura da mesa com a ocular compensadora 6 e a objectiva de immersão 1/12 Zeiss.

Porciuncula Moraes del.

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão : Evolução dos gametos de *Plasmodium falciparum*.

Evolution of the gametes of Plasmodium falciparum(*)

(Preliminary note)

by

DR. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO

(*Chief in Service*)

(With plate XIX)

The evolution of the gametes of *Plasmodium falciparum* is a problem of parasitology not yet fully elucidated, in spite of numerous works on this subject already produced by several authors, amongst whom may be quoted Watson [1], Maurer [2], V. der Borne [3], Perekropow [4], Swellengrebel [5], Thomson [6], etc. and more recently Ioff [7]. This scarcity of knowledge about the evolution of the sexuated forms of *Plasmodium falciparum* is due, to a great extent, to the peculiar condition of its life history which causes this haematozoon to prefer the central organs for the development of the schizogonic as well as of the gametogenic stages. Owing to this peculiarity, in the peripheric blood of patients attacked by these haematozoa, as a rule, only the rings which are the early forms of the parasite, or the adult gametes are to be found. It is only in strong infections, where the abundance of parasites in the central organs becomes very great, that the passage into the peripheric blood of the different evolutional forms of the sexuated and asexuated stages of the parasite occurs. The appearance of such forms at the periphery is, therefore, a sure indication of the seriousness of the illness, and as soon as the patient improves, they at once disappear from the periphery. But even in similar cases they, as a rule, are not exceedingly abundant. Such a accentuated splanchnotro-

(*) Received for publication 30 June, 1930.

1 Watson, L. 1903, The Journal of Trop. Med., vol. 6, pag. 221.
2 Maurer, G. 1902, Zentralblatt für Bakteriol. Orig., v. 32, pag. 695.
3 v. Der Borne, C. 1907, Archv f. Schiffs-und Tropenhygiene.
4 Perekropow, G., 1914, Archiv. für Protistenkunde, vol. 35, pag. 139.
5 Swellengrebel, N., 1913, Zentralblatt für Bakteriologie, vol. 70, pag. 179.
6 Thomson, D., 1913, Ann. of Trop. Med., pag. 85.
7 Ioff, I., 1930, Zentralblatt für Bakteriologie, vol. 116, pag. 225.

pism of the haematozoon of tropical fever constitutes the reason why the knowledge of its evolution still remains, to a great extent, incomplete.

In order to study this matter, we considered it logical to seek the gametes of *Plasmodium falciparum* in their favourite foci in the organs, and preferably in the living individual because, in dead bodies, the parasite is rapidly altered, presenting itself morphologically modified even in recent autopsies, as we repeatedly were able to observe and as also may be seen from the above mentioned work of Thomson. Even in the material obtained from patients in coma, the haematozoa, at times, already appear to have undergone modifications.

For the purposes of the study of the haematozoon of tropical fever, we gave the preference to the spleen, because it is one of the organs most attacked by this parasite, and also because it is easily accessible.

An objection to the danger of such punctures might be raised, but, in this respect, until now, we had never experienced any disagreable accident, owing to the skilful execution of same by our distinguished colleague and friend, Dr. Sylvio Moniz, in whose ward of the Santa Casa Hospital of Rio de Janeiro we always met with the kindest reception and where the greatest part of this work was performed. Up to now punctures have been performed in about 15 patients without any accident. It gives us great pleasure to express our most sincere thanks to Dr. Sylvio Moniz and to all his assistants, especially to Dr. Dario Pinto and Dr. Dauro Mendes for their valuable assistance and the great interest they took in our researches made in the 9-th ward of this Hospital.

From the parasitologic point of view, the puncture of spleen is not always efficient because, at times, it bleeds even more than the pulp of the organ itself, which is the ideal material for slides, when the expected evolutional forms of the parasite exist therein. Often, in early acute cases, the punctures of spleen only give schizogonic forms and, in some other cases, only very developped crescents, while, in certain other cases, in the organ there are to be found quantities of the most varied evolutional forms of gametes. These were the cases which permitted the serial arrangement of the parasites, we present in this work and which, in our opinion, represent many evolutional stages of the gametes of both sexes of *Plasmodium falciparum*.

The preparations of spleen material must be made as quickly as possible after the puncture of the organ with a cannula and after aspiration of the material with the syringe. With the little pulp obtained slides are made, care being taken not to produce any violent pressure or rub-

bing of the material in order not to deform the haematozoa existing therein.

Care should be taken to dry the material rapidly and as soon as the material is dry, the cover glasses are fixed with absolute alcohol and afterwards stained by Giemsa's; we used 3 drops of stain for each cubic centimeter of water. In this way, at the end of 1 hour, we obtain a perfectly stained preparation of the parasites as well as of the cells. The preparations, when dried, fixed with alcohol and stained by Giemsa's, are those which give the parasites their best appearance. The fixation of the humid material is not commendable at all for these researches. The examination of these spleen slides, when compared with those of the peripheric blood of the same and of other patients allowed us to group some of the different evolutional stages of *Plasmodium falciparum,* so that, with regard to evolution and to morphologic variations, a sketch may be given which, in our opinion, fairly approaches reality and will serve, as we hope, as a scheme for further researches on this subject.

We now pass on to the description of the evolution of male and female gametes of *Plasmodium falciparum,* in accordance with the results obtained from the examination of our preparations and our interpretation thereof.

EVOLUTION OF MALE GAMETES.

The smallest evolutional forms of these gametes are, in our opinion, constituted by small roundish haematozoa, without the amoeboid prolongations which are found in the spleen. They appear as small roundish parasites, without nutritive vacuole, with homogeneous protoplasm, stained blue by Giemsa's, and with a mass of chromatin which is sole, stained ruby red and rather large in size. These forms, sometimes, do not exceed 2 μ in diameter (Pl. XIX, fig. 1).

The more advanced forms attain 3 μ presenting fragmented chromatin clustered in a sole spot. In their protoplasm an initial formation of pigments is already noticeable (Pl. XIX, fig. 2). At a still more advanced stage of evolution of the parasite, they appear a little larger than the preceding ones, with a more or less abundant chromatin, fragmented or not, and ranged either at the periphery or in the inner part of the body of the haematozoon, assuming varied positions and different aspects. The pigment then appears very abundant, being spread over the protoplasm of the haematozoon without any special localization, nor any tendency to agglomerate. The protoplasm appears blue, without vacuoles, and the

parasite has a roundish or a slightly elongated shape; when full grown, it may attain 4 or 5 μ in diameter.

Henceforth the future male gamete begins to assume an elongated, ovoid or elliptic shape. The chromatin is fragmented and spread over the protoplasm at the periphery as well as at its central zone. The pigment, still more abundant and under the form of granules or rodlets of a yellowish brown colour, also appears spread over the protoplasm. At this stage, the parasite has a greater volume than in the preceding periods (Pl. XIX, figs. 8 and 9).

Afterwards, the parasite begins to assume the distinct form of a crescent. At first, it elongates itself assuming an elliptic shape, its length being double its width. The protoplasm appears of a light blue colour with a regular contour and without any vacuole whatever. The chromatin, always fragmented, appears clustered in one zone or other of the protoplasm. The pigment with its appearance already described is to be seen in that part of the protoplasm which is not occupied by the nucleus (Pl. XIX, fig. 10).

The male gamete then begins to bend slightly, thus assuming, for the first time, the outlines of a crescent form. The latter is still fairly small, occupying the interior of the blood corpuscle. As to the protoplasm, chromatin and pigment, they maintain the same characteristics as in the preceding stage (Pl. XIX, fig. 12).

Finally, the crescent in its continued evolution assumes its typical form increases and stretches the red corpuscle, of which then only a part appears in its concavity. The typical male gamete fully developed takes the form of a crescent or a curved sausage, 9 to 12 μ in length, with thick extremities. Its protoplasm is of a light blue colour, and in its interior can be seen the chromatin which is fragmented and spread over it, except at its extremities. The pigment of the gamete is to be seen in the middle of the chromatin. This gamete, by its shorter and thicker form, by its clearer protoplasm and by the scattered distribution of the pigment and the chromatin is perfectly distinguishable from the female gamete (Pl. XIX, fig. 12).

EVOLUTION OF THE FEMALE GAMETE.

The evolution of the female is very characteristic and in several spots rather different from the male crescent. The earlier forms of the female crescent appear under the form of a long and thin band; they occur, not rarely, in certain cases of tropical malaria, in the organs as well as in the peripheric blood. These forms have already been observed

and illustrated by many authors, but not brought into relationship with the sexuated evolution of *Plasmodium falciparum*. These forms are ranged in the shape of long and thin bands crossing the blood corpuscle from side to side, sometimes dividing it into two seemingly equal halves. These bands, though thinner, nevertheless recall in their arrangement the equatorial plates of the haematozoon of quartan. They can be seen in fresh preparations with their characteristic appearance; when stained, they show themselves as being constituted by a regular thin protoplasmic filament, without any pseudopodic prolongation; in their centre or at one of the extremities they have an elongated or roundish mass of chromatin (Pl. XIX, figs. 13 to 15). Gradually, these parasitic forms grow thicker, though preserving their primitive morphology (Pl. XIX, fig. 16). In the earlier forms there is not yet any pigment, but as soon as the haematozoon becomes a little more enlarged, one begins to note in its protoplasm the appearance of pigment, which takes the form of fine granules (Pl. XIX, fig. 17).

At a more advanced stage of its evolution, the parasite appears elongated, spindle-formed, richer in pigment, which is spread over the protoplasm. The chromatin is seen as a single mass in one spot of the protoplasm of the gamete, being less compact than in the preceding forms (Pl. XIX, fig. 18). Wenyon [8], in his treatise on protozoology, illustrates a form which calls to mind the one here given by us.

The gamete continuing in its development loses its form of a regular spindle, presenting one of its borders in a relatively straight line, whereas the other bends out. The chromatin becomes more abundant and begins to be fragmented, while the pigment, under the form of granules or small fragments of a dull brown or yellowish colour, appears to be scattered in the whole parasite. These forms grow until they occupy about the half of the red corpuscle, which latter until then does not appear to be deformed (Pl. XIX, figs. 17 to 24).

Henceforth one can see that the female begins to increase greatly in length and the red corpuscle, while accompanying it, also becomes deformed. The extremities of the parasite become tapered, and it presents in size and width the double of the preceding forms (Pl. XIX, figs. 16 and 24), attaining 13 to 15 μ. The female gamete then assumes the characteristic form of an elongated spindle or cigar, which form has already been seen by several authors, and to which attention was recently called by Ioff, although he does not give an exact interpretation of this.

---

[8] Wenyon, C. 1926. Protozoology.

The protoplasm of the gamete appears in all these forms homogeneous and blue stained, while the pigment appears to be scattered and the chromatin already shows the tendency to condense itself and to approach the central part of the parasite (Pl. XIX, figs. 25 to 28).

From this stage onward, one can observe in the gamete, hitherto much elongated, the tendency to become curved and to assume the future form a crescent. The pigment still continues scattered and the chromatin more condensed moves towards the middle part of the gamete (Pl. XIX, fig. 29).

The development of the crescent being a little more advanced, its curvature becomes more accentuated and its concavity is then occupied by the free part of the red corpuscle. The chromatin is collected in the middle of the crescent, and then one can note that the pigment, hitherto scattered over the whole protoplasm of the gamete, gathers more and more around the chromatin. The crescent form with its thin extremities and an intensely blue protoplasm is then characterized in a very evident manner (Pl. XIX, figs. 30 and 31).

Finally, the gamete becomes still more curved, and so the typical form of the female crescent with its thin extremities becomes more and more accentuated. In its concavity there remains the free portion of the red corpuscle, while the parasite and the pigment definitively condense themselves around the chromatin placed in the central part of the parasite. The protoplasm is of a much more intense blue than that of the male gamete and appears without any vacuoles or granulations, except those of the pigment. The female crescent is always of sharp outlines and regular contour; it measures 12 to 14 μ in length by 2 to 3 μ in breadth, at the centre.

After having assumed the appearance above described, the evolution of the female gamete is complete, the entire development bieng rather interesting, characteristic and considered different from that of the male gamete.

Some curious forms of crescents which we happened to observe in the course of our researches in spleen slides from patients with tropical malaria deserve some reference here.

The already known forms of two crescents in the one and the same red corpuscle are not rarely seen in the preparations, as it is documentarily proved by the illustrations annexed (Pl. XIX, figs. 33 and 35), in which we intend to signalize only the earlier forms of these double crescents with the pigment still scattered, whereas the adult forms are already known.

Apart from these forms, we intend here to point out some others which are difficult to explain with certainty, and which are represented in figs. 36 to 40 of plate XIX. Such forms are evidently evolutional forms of female gametes which, along one of the borders, present a very regular red band; we do not know definitely if, considering its regularity, this constitutes a special formation or a pure deposit of staining material, due to an alteration of degeneration of the haematozoon. These strange forms of gametes of tropical fever presented themselves in cases in which we observed them coexistent with common and normal forms.

Fig. 41 of plate XIX, also represents a curious form of male gamete, in which we observed an excessive increase of chromatin; fig. 42 of the same plate represents a roundish gamete, found in a spleen slide, where it occurs, as a rule, very rarely.

The above described different forms of the male and female gametes of the haematozoon of the tropical fever of *Plasmodium falciparum* only present, in our opinion, a preparatory scheme of the evolution of these parasites, and we call attention of those who devote themselves to parasitological studies concerning malaria to the same, in the hope that a deeper study of the subject may afford its definitive elucidation.

Before concluding, we should like to state that, like others, we verified in the spleen slides the phagocytosis of haematozoa by polynuclear leucocytes, but an additional observation we made is that such leucocytes only include divisional or very early forms of the haematozoon, but never developed schizogonic forms or developed gametes.

Rio, 4/30/930.

EXPLANATION OF PLATE XIX.

Evolution of the gametes of *Plasmodium falciparum*.

Figs. 1 and 2 —Very young forms of male gametes.
Figs. 3 to 8 —Various evolutional forms of the same gametes.
Figs. 9 and 10 —Forms of male gametes at the beginning of elongation.
Fig. 11 —Male gamete at the beginning of bending.
Fig. 12 —Male gamete completely developed.
Figs. 13 to 16 —Very young forms of the female gamete of *Plasmodium falciparum*, under the shape of a narrow band.
Figs. 17 and 18 —Broader band forms of the same gametes.
Figs. 19 to 24 —Subsequent evolutional forms of the female gamete inside the red corpuscle, before elongation.
Fig. 25 —Beginning of elongation of the female gamete.
Figs. 26 to 28 —Elongated female gametes under the form of a cigar.

Fig. 29 —Beginning of bending of the female gamete, the pigment being still scattered.
Fig. 30 —Bending of the female gamete, and concentration of the pigment in its median part.
Figs. 31 and 32 —Female gametes completely developed.
Figs. 33 to 35 —Double female gamete in the one and the same red corpuscle.
Figs. 36 to 40 —Female gametes with a red band along one of the borders.
Figs. 41 and 42 —Male gamete with chromatin extremely developed, and a round form a male gamete.

Drawings made at the height of the table with compensatory occular 6 and Zeiss'-immersion lens of 1/12.

Pesquizas helminthologicas realisadas em Hamburgo(*)

V. Genero Prosotocus Loos, 1899

(Trematoda: Lecithodendriidae)

por

LAURO TRAVASSOS

(Com as estampas XX—XXI)

Prosotocus Looss, 1899.

Prosotocus Looss, 1899, p. 616.
Prosotocus Stiles, 1901, p. 197.
Prosotocus Pratt, 1902, p. 889.
Prosotocus Luehe, 1909, p. 116.
Prosotocus Travassos, 1921, p. 77.
Prosotocus Fuhrmann, 1928, p. 115.
Prosotocus Mehra & Negi, 1928, p. 97.

Diagnose. Lecithodendriidae—Pleurogeninae. Corpo redondo ou ovoide: cuticula revestida de espinhos; acetabulo equatorial ou post-equatorial; ventosa oral sub-terminal, seguida immediatamente do pharynge; esophago curto, em Y; cecos amplos e curtos, terminando antes da zona acetabular; póro genital, pre-acetabular, post-testicular; bolsa do cirro grande, com cirro, prostata e vesicula seminal enovelada; testiculos situados anteriormente, extra-cecaes; pre-cecaes; ovario pre-acetabular, post—ou intra-cecal; utero formando alças post-testiculares; vitellinos constituidos por poucos folliculos relativamente volumosos pre-testiculares.

HABITAT: Intestino de batrachios.
TYPO: *Prosotocus confusus* (Looss, 1894).

Este interessante grupo de trematodeos é representado apenas por duas especies: uma, o typo descripto por Looss em 1894, outra recentemente descripta por Mehra & Negi (1928).

Os varios exemplares que tivemos opportunidade de examinar em Hamburgo não correspondiam a figura 33 estampa XXI de Looss; corres-

---

(*) Recebido para publicação a 16 Março de 1930.

pondendo, ao contrario as figuras 35 e 164. As differenças referem-se a disposição do ceco do lado do póro genital e a posição relativa deste e ainda a situação da alça uterina mais anterior.

Na figura 33 de Looss é representado um ceco cruzando a bolsa do cirro e tão longo como o do lado opposto o que não se observa em nenhum dos nossos exemplares que são todos como os representados nas figuras 35 e 164 de Looss, não obstante serem adultos, o que não se dava com os representados por Looss nestas figuras.

Em nosso material o utero segue mais ou menos o mesmo trajecto indicado por Looss em sua figura 33 sendo de notar que em todos os nossos especimens vae acima dos testiculos que em alguns casos são completamente envolvidos. O typo de Looss corresponde muito mais a especie descripta por Mehra & Negi que aos exemplares por nós examinados, apezar de ser bem facil de distinguir dos dois typos. O typo de Looss a não se tratar de uma imperfeição de desenho e de observação, o que não parece provavel, deve indicar uma dualidade especifica. Neste caso deverá ser mantido o nome *confusum* para o typo representado na figura 33, ficando o typo que estudamos e commumente representado pelos outros auctores que tem dado desenhos originaes, constituindo uma nova especie. O facto de existir uma outra especie exactamente com as caracteristicas que afastam os dois typos europeus nos parece fortalecer a idéia de dualidade especifica. O re-exame dos exemplares de Looss poderá esclarecer definitivamente esta questão, com tudo nos parece fóra de duvida tratar-se de duas especies e por isso propomos para o typo que estudamos a denominação de *Prosotocus fuelleborni* n. sp.

Torna-se muito difficil estabelecer a que typo se referem os diversos autores que têm estudado este parasito, sendo evidente que Looss teve em mãos os dois typos. Por esta razão consideramos como referindo-se a ambos, todas as referencias de autores que não representaram o parasito ou que se reportam ao trabalho classico de Looss.

Prosotocus confusus (Looss, 1894).
(Est. XX, fig. 1).

Distomum (Brachycoelium) clavigerum Dujardin, 1845, p. 387, 404.
Distomum confusum Looss, 1894, p. 101, pl. 2, figs. 33, 34 e 35, pl. 8 fig. 164, p. p.
Distomum clavigerum Pagenst., 1897, p. 17 etc., pl. 4, figs. 8-14.
Distomum confusum Looss, 1896, p. 88.
Distomum confusum Sonsino, 1896, 448.
Distomum confusum Looss, 1898, p. 460.
Prosotocus confusus Looss, 1899, p. 616.

Distomum confusum Ssinitzin, 1907, p. 36.
Prosotocus confusus Luehe, 1909, p. 116, fig. 89.
Distomum confusum Nickerson, 1900, p. 814.
Distomum confusum Luehe, 1901, p. 169
Prosotocus confusus Ssinitzin, 1905, p. 144.
Prosotocus confusus Stafford, 1905, p. 684.
Pleurogenes confusus Klein, 1905, p. 70.
Prosotocus confusus Travassos, 1921, p. 77.
Prosotocus confusus Nicoll, 1926, p. 15.
Prosotocus confusus Mehra & Negi, 1928, p. 97.

Estes diversos autores provavelmente referiram-se aos dois typos de *Prosotocus* observados na Europa sendo inteiramente impossivel a separação, mesmo porque quasi todos se referem ao trabalho classico de Looss.

Resumiremos a descripção de Looss que parece-nos foi baseada principalmente no exemplar representado na figura 33 (figura 1).

Comprimento 1,36 mm. por 1 mm. de largura; ventosa oral com 0,16 mm.; acetabulo com 0,15 mm.; esophago com 1 mm.; cecos attingindo a zona acetabular, o do lado do póro genital cruza a bolsa do cirro; póro genital ao nivel da bifurcação do intestino, muito acima do equador do corpo; bolsa do cirro ultrapassando a zona acetabular; testiculos com zonas coincidindo e em contacto com a zona da ventosa oral, coincidindo portanto com a zona do pharynge, são irregularmente arredondados; ovario logo acima da zona acetabular; utero formando alças longitudinaes abaixo do acetabulo e uma grande alça transversal acima do acetabulo e não ultrapassando a zona testicular; ovos operculados com 0,034 por 0,013 mm.; vitellinos na zona e acima da zona testicular.

HABITAT: Intestino de *Rana temporaria* L., *R. esculenta* L., *Bufo vulgaris, B. variabilis* e *B. calamita*.
DISTR. GEOGR.: Europa.

Prosotocus indicus Mehra & Negi, 1928.
(Est. XX, fig. 2).

Prosotocus indicus Mehra & Neji, 1928, p. 89, pl. 3, fig. 4, pl. 7, fig. 10.

Resumimos os caracteres referidos por Mehra & Negi:

Comprimento 0,6 a 1,1 mm. por 0,42 a 0,52 mm. podendo em exemplares distendidos attingir 1,2 a 2,4 mm.; ventosa oral com 0,06 a 0,07 mm.; acetabulo igual a ventosa oral; esophago com 0,12 mm.; cecos attingindo o fim da zona acetabular, iguaes em comprimento e cruzando a bolsa do cirro; póro genital ao nivel da bifurcação intestinal; bolsa do cirro acima da zona acetabular, transversal; testiculos asymetricos, ao nivel da bifurcação intestinal, abaixo da zona do pharynge; ovario lateral, acima do acetabulo; utero com uma alça lon-

gitudinal de cada lado e uma transversal ao nivel do acetábulo, não attingindo a zona testicular; ovos com 0,027 raramente 0,024 por 0,013 raramente 0,012 mm.: vitellinos na zona e acima da zona testicular.

HABITAT: Intestino de *Rana tigrina.*
DISTR. GEOGR.: India.

Prosotocus fuelleborni n. sp.
(Est. XX, fig. 3 e est. XXI, figs. 4—7).

Distomum confusum Looss, fig. 35 pl. 2 e 164 pl. 8.
Prosotocus confusus Braun, 1915, p. 154, fig. 126.
Prosotocus confusus Fuhrmann, 1928, p. 75, fig. 97.

Trematodeos pequenos de corpo redondo, mais ou menos ovoide ou ellipsoide. Cuticula revestida de espinhos em toda a extensão. Acetabulo equatorial ou post-equatorial, regulando o tamanho da ventosa oral. Ventosa oral sub-terminal, seguida immediatamente do pharynge que têm cerca de um terço do diametro da ventosa. Esophago curto e typicamente em fórma de Y; cecos largos e muito curtos sendo o do lado do póro genital mais curto e mais largo; ficam dispostos em angulo obtuso. Os cecos terminam sempre antes da zona acetabular e nunca cruzam a bolsa do cirro como nas outras duas especies. Póro genital lateral, abaixo da zona dos testiculos e da bifurcação intestinal e acima da zona acetabular; bolsa do cirro muito grande, contem cirro, grande prostata e vesicula seminal enovelada. Testiculos com campos afastados e zonas coincidindo, são irregularmente redondos ficando acima dos cecos e abaixo da zona do pharynge. Ovario mediano, pre-acetabular, intra-cecal e parcialmente abaixo da zona dos cecos. Glandula de Mehlis e espermatheca post-ovarianas. Utero formando dois grupos de alças longitudinaes, post-acetabulares, sinuosas e um grupo de alças transversaes, pre-testiculares e post-vitellinicas, termina o utero em longa e musculosa vagina disposta em S mais ou menos invertido e cruzando a bolsa do cirro; vitellinos constituidos por acnes relativamente volumosos; pre-cecaes, pre-testiculares, pre-uterinos, na zona e abaixo da zona da ventosa oral, apenas em contacto com a zona dos testiculos. Ovos de côr castanho escura, operculados, medem cerca de 0,024 a 0,028 por 0,010 a 0,016 mm. Vesicula excretora em V terminando antes da zona do acetabulo.

HABITAT: Intestino de *Rana esculenta* L.
DISTR. GEOGR.: Europa.

Trabalhamos no material registado sob os numeros 6.498 a 6.500 proveniente de Hamburgo e por nós colleccionado nos mezes de Junho e Julho.

Das medidas tomadas em diversos dos nossos exemplares damos o seguinte quadro:

Comprimento	1,31	0,92	1,24	1,20	1,28	1,08	1,15 mm.
Largura	0,81	0,71	0,65	0,71	0,81	0,67	0,68 mm.
Ventosa oral	0,16 × 0,12	0,22 × 0,19	0,18 × 0,15	0,17	0,20	0,17	0,21 mm.
Acetabulo	0,16	0,22 × 0,20	0,16	— —	0,20	0,19	0,16 mm.
Pharynge	0,056	0,048	0,056	— —	0,056	— —	0,056 mm.
Esophago	0,08	0,19	— —	— —	— —	— —	0,10 mm.
Cecos	0,19	0,24	0,20	0,16	0,24	0,17	0,17 mm.
	0,17	0,17	0,29	0,17	0,20	0,12	0,14 mm.
Bolsa do cirro	0,44 × 0,10	0,56 × 0,12	0,56 × 0,12	0,52 × 0,13	0,56 × 0,14	0,48 × 0,13	0,54 × 0,16 mm.
Testiculos	0,056×0,11	0,14	0,096	0,10	0,13	0,088	0,22 × 0,12 mm.
	0,08×0,16	0,14	0,11	0,12	0,16	0,096	0,16 × 0,12
Ovario	0,17 × 0,96	0,12 × 0,19	0,18 × 0,096	0,16 × 0,10	0,24 × 0,12	0,22 × 0,096	0,16 × 0,12 mm.
Ovos	28×14—16	28×16	24×10	27×13	27×13	27×14	27×14 micra

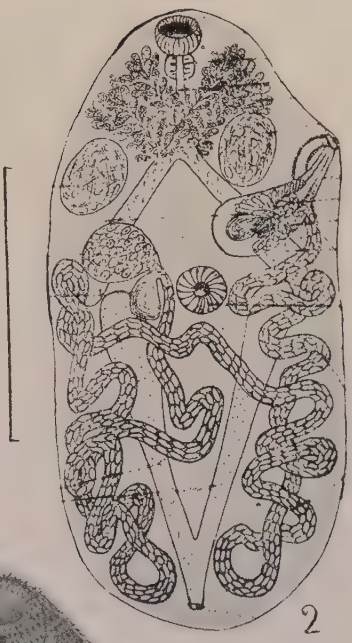
EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS XX—XXI.

ESTAMPA XX.

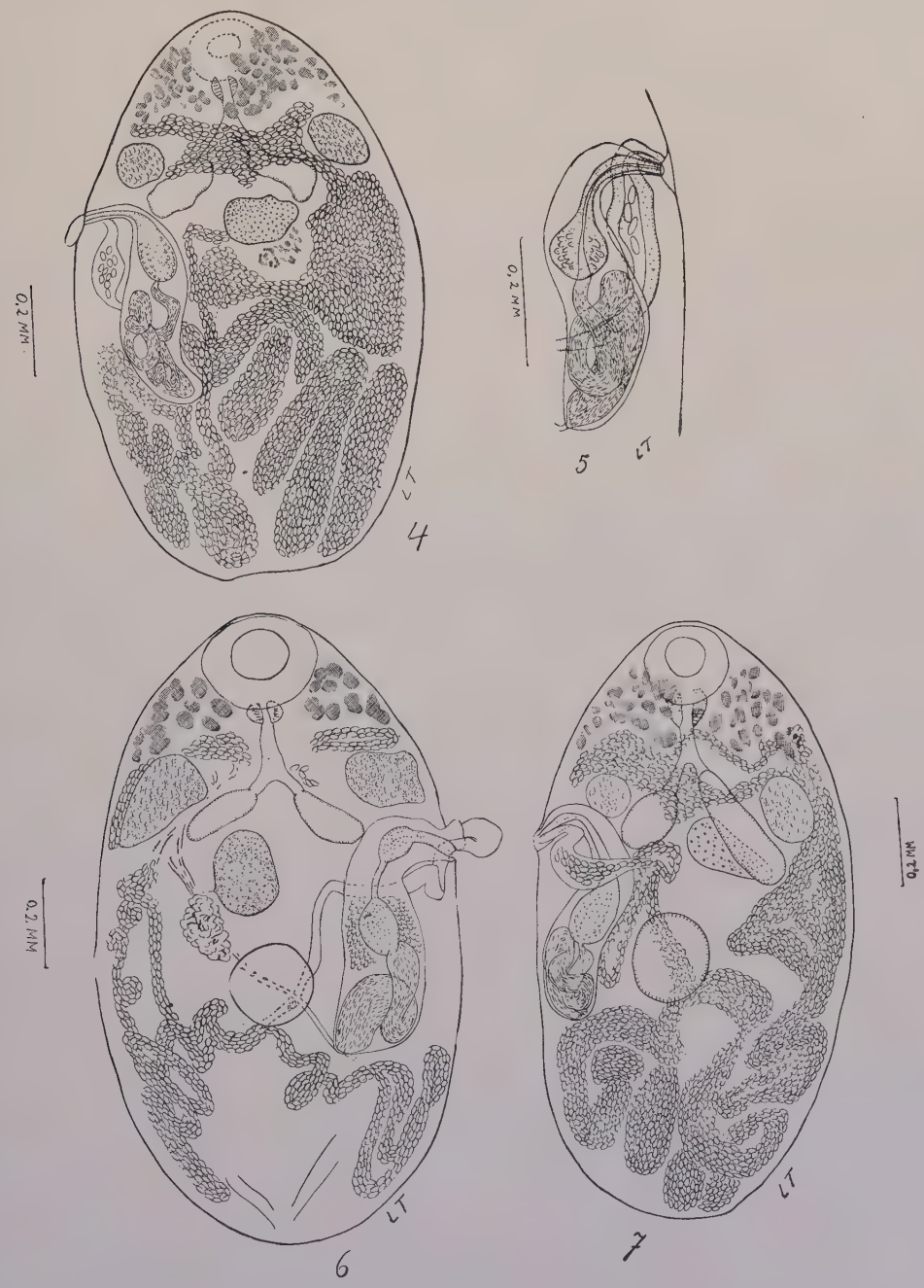
Fig. 1—*Prosotocus confusus*, segundo Looss.
Fig. 2—*Prosotocus indicus*, segundo Mehra & Negi.
Fig. 3—*Prosotocus fuelleborni* jovem, segundo Looss.

ESTAMPA XXI.

Fig. 4—*Prosotocus fuelleborni* adulto, face dorsal; original.
Fig. 5—*Prosotocus fuelleborni*, bolsa do cirro; original.
Fig. 6—*Prosotocus fuelleborni* adulto, com poucos ovos; original.
Fig. 7—*Prosotocus fuelleborni* adulto, face dorsal; original.



Lauro Travassos : Genero *Prosotocus*



Lauro Travassos : Genero *Prosotocus*

Pesquizas helminthologicas realisadas em Hamburgo(*)

VI. Genero Pleurogenoides Travassos, 1921

(Trematoda: Lecithodendriidae)

por

LAURO TRAVASSOS

(Com as estampas XXII—XXV)

Este genero estabelecemos desdobrando o antigo *Pleurogenes* Looss. No genero *Pleurogenes* incluimos apenas a especie typo, e foi recentemente enriquecido com duas especies. No genero *Pleurogenoides* são incluidas todas as outras especies até então consideradas como fazendo parte do genero *Pleurogenes*. Em 1928, Mehra e Negi, estudando os trematodeos dos batrachios da India propuzeram o desdobramento do genero *Pleurogenes* em dois sub-generos: *Pleurogenes* e *Telogonella,* isto é, fizeram exactamente o que já haviamos feito em 1921, apenas dando valor sub-generico aos dois grupos propostos. Equivocaram-se estes auctores incluindo em seu novo sub-genero exactamente o typo de *Pleurogenes* de modo que *Telogonella* é synonymo de *Pleurogenes* e *Pleurogenes* sensu Mehra e Negi synonymo de *Pleurogenoides* Travassos, 1921. Fazendo, os mesmos auctores, uma synopsis da sub-familia *Pleurogeninae* incluem nella apenas o genero *Pleurogenes* (com *Pleurogenes* e *Telogonella*), *Prosotocus, Ganeo* e *Brandesia*. Descrevem no genero *Ganeo* uma estructura do apparelho genital macho que o afasta desta sub-familia e o aproxima de *Lecithodendriinae*.

Preferimos considerar os *Pleurogeninae* ou *Pleurogenetinae* como propuzemos em 1921, com as modificações feitas em 1928. Desta maneira entram hoje os seguintes generos na sub-familia:

Pleurogenes Looss, 1896.
Pleurogenoides Travassos, 1921.
Cryptotrema Ozaki, 1926 [1].

(*) Recebido para publicação a 7 de Maio de 1930.

[1] Para este genero Ozaki refere uma vesicula excretora em Y. No mais é exactamente um *Pleurogeninae*. A interpretação da forma da vesicula excretora é suceptivel de confusão por um maior alongamento accidental da parte terminal do V, como Mehra & Negi descrevem para o *Prosotocus indicus*.

Limatulus Travassos, 1921.
Loxogenes Stafford, 1905.
Prosotocus Looss, 1899.
Brandesia Stossich, 1899.
Phaneropsolus Looss, 1899.
Mosesia Travassos, 1928.
Parabascus Looss, 1907.

Este ultimo genero é incluido com muitas reservas. De *Mosesia* não é conhecida a fórma da vesicula excretora, mas, dadas as affinidades com *Phaneropsolus* deve-se admittir seja do mesmo typo deste.

Pleurogenoides Travassos, 1921.

Pleurogenoides Travassos, 1921, p. 77.
Pleurogenoides Furhmann, 1928, p. 115.
(Pleurogenes) Mehra & Negi, 1929, p. 99.

Diagnose. Lecithodendriidae, Pleurogeninae. Corpo arredondado ou ovoide. Cuticula revestida de espinhos. Acetabulo mais ou menos do tamanho da ventosa oral, sub-equatorial. Ventosa oral, sub-terminal, seguida logo do pharynge. Esophago typicamente em Y. Cecos curtos e largos, terminando antes da zona acetabular e fazendo nitido contraste com o esophago. Póro genital lateral, pre-equatorial. Bolsa do cirro grande, obliqua, com cirro, prostata e vesicula seminal envelada. Testiculos com zonas coincidindo e campos afastados, parcialmente na zona acetabular, e geralmente abaixo da zona cecal. Ovario extracecal, pre-testicular; glandula de Mehlis e espermatheca intra-cecal. Utero abaixo da zona testicular formando dois grupos lateraes de alças longitudinaes sinuosas, vitellinos pré-cecaes, na zona da ventosa oral e esophagiana. Ovos operculados, castanho amarellados.

HABITAT: Intestino de reptis e batrachios.
TYPO: *P. tener* (Looss, 1898).

Até agora são incluidos neste genero as seguintes especies: *tener* (Looss, 1898), *medians* (Olsson, 1876), *gastroporus* (Luehe, 1901), *sphaericus* (Klein, 1905), *freycineti* (Johnston, 1912), *solus* (Johnston, 1912), *taylori* (Tubangui, 1928).

Todas de batrachios excepto o *tener* que é parasito de lacertidio. A estas especies acrescentamos uma que julgamos nova e que descrevemos com o nome de *P. stromi* n. sp. proveniente de *Rana esculenta ridibunda* Pallas, ficando o genero actualmente com 8 especies. Destas diversas especies apenas conseguimos examinar o *P. medians* e o *P. stromi*.

Pleurogenoides tener (Looss, 1898).
(Est. XXII, fig. 1).

Distomum tacapense Looss, 1896, p. 86, pl. VI, figs. 61-62, pl. VII, fig. 63.
Distomum tacapense Sonsino, 1896, p. 447.
Distomum tenere Looss, 1898, p. 461.
Pleurogenes tener Looss, 1898, p. 461.
D. (Pleurogenes) tenereum Looss, 1899, p. 616.
Prosotocus tener Looss, 1899, p. 616.
Pleurogenes tener Klein, 1905, p. 70.
Prosotocus tener Stafford, 1905, p. 684.
Pleurogenoides tener Travassos, 1921, p. 77.
Pleurogenes (Pleurogenes) tener Mehra & Negi, 1928, p. 100.

Desta especie, juntamente com as outras que não examinamos pessoalmente damos um quadro comparativo adeante.

HABITAT: Intestino de cameleão (*Lacertilia*).
DISTR. GEOGR.: Tunisia, Alexandria.

Pleurogenoides medians (Olsson, 1876).
(Est. XXII, figs. 2—4).

Distomum clavigerum Pagenstecher, 1857, p. 39, figs. 8-14, pl. IV, *nec* Rudolphi, 1819.
Distomum medians Olsson, 1876, p. 25, pl. 4, figs. 59-63, *p. p.* [2].
Distomum clavigerum Pachinger, 1888, p. 108, fig. A. [3].
Distomum medians Stossich, 1889, p. 70.
Distomum medians Braun, 1892, p. 583.
Distomum medians Looss, 1893, p. 811.
Distomum medians Monticelli, 1893, p. 86, 95, etc.
Distomum sp. inq. Sonsino, 1893, p. 5.
Distomum tacapense Sonsino, 1894, p. 2, *nec* Looss, 1896, p. 86, pl. VI, figs. 61-62, pl. VII, fig. 63.
Distomum medians Looss, 1894, p. 2, 105, pl. 2, figs. 36-38, pl. 8, figs. 168-169, pl. 9, figs. 187-188.
Distomum medians Monticelli, 1896, p. 151.
Distomum tacapense Sonsino, 1896, p. 447, *nec* Looss, 1896.
Distomum medians Looss, 1896, p. 91.
Distomum tacapensis Looss, 1898, p. 460.
Distomum medians Looss, 1898, p. 461.
Distomum medians Muehling, 1898, p. 23.
Pleurogenes medians Looss, 1899, p. 617, *nec* Stafford, 1905, p. 683.
Distomum tacapense Looss, 1899, p. 616.

---

[2] A figura 63 refere-se a especie da Africa.
[3] O parasito representado tem a bolsa do cirro não ultrapassando o intestino.

Pleurogenes tacapense Looss, 1899, p. 622.
Pleurogenes medians Odhner, 1900, p. 17.
Pleurogenes medians Stossich, 1900, p. 7, fig. 12.
Pleurogenes medians Stossich, 1900, p. 17.
Distomum medians Luehe, 1900, p. 558.
Distomum medians Nickerson, 1900, ps. 813, 814.
Distomum medians Stafford, 1900, p. 412.
Pleurogenes medians Luehe, 1901, p. 57.
Pleurogenes medians Luehe, 1901, p. 171.
Distomum medians Luehe, 1901, p. 169.
Distomum medians Stafford, 1902, p. 724.
Pleurogenes medians Looss, 1902, p. 823.
Pleurogenes medians Klein, 1905, p. 69.
Distomum medians Stafford, 1905, p. 683, etc.
Pleurogenes medians Ssinitzin, 1905, p. 145.
Pleurogenes medians Ssinitzin, 1906, p. 687.
Pleurogenes medians Ssinitzin, 1907, p. 36.
Pleurogenes medians Luehe, 1909, p. 117.
Pleurogenoides medians Travassos, 1921, p. 77.
Pleurogenes medians Nicoll, 1926, p. 15.
Pleurogenes medians Fuhrmann, 1928, p. 63, fig. 83.
Pleurogenes (Pleurogenes) medians Mehra & Negi, 1928, p. 100.

Corpo redondo ou ovoide tendo o maior diametro post-equatorial. Cuticula revestida de espinhos. Acetabulo um pouco menor que a ventosa oral, equatorial ou logo abaixo do equador. Ventosa oral sub-terminal, seguida immediatamente do pharynge que têm approximadamente a metade do diametro da ventosa. Esophago longo e typicamente em fórma de Y. Cecos curtos e largos, geralmente o do lado opposto a bolsa do cirro é um pouco mais curto. Os cecos terminam antes da zona acetabular ou no maximo atlingem esta zona; o do lado da bolsa do cirro sempre cruza esta e igualmente tambem a vagina. Póro genital lateral, ao nivel da zona esophagiana. Nos exemplares fixados comprimidos póde haver um deslocamento accidental, mas este deslocamento é funcção da posição obliqua do trematodeo. A bolsa do cirro é volumosa contendo grande cirro, prostata e vesicula seminal enovelada, fica disposta obliquamente terminando junto ao acetabulo, cruzando o ceco. Os testiculos tem campos afastados e zonas coincidindo, ficando situados na zona acetabular, isto é, mais ou menos no equador do corpo, são situados logo abaixo da terminação dos cecos, a uma maior ou menor distancia destes dependendo do gráo de contractura do corpo do parasito. Ovario extra-cecal, geralmente alongado e parallelo ao ceco opposto ao póro genital, fica na zona cecal. Glandula de Mehlis e espermatheca intra-cecaes e medianas, lógo acima do acetabulo. Utero formando dois grupos de alças longitudinaes de cada lado da porção posterior do corpo, alças constituidas por um ramo descendente e um ramo ascendente muito sinuosos. A primeira porção do utero fórma a alça situada no lado opposto ao ovario e a segunda a porção que fica no lado contrario de tal modo a haver um duplo cruzamento. Vitellinos constituidos por poucos folliculos volumosos, ficam situados dorsalmente na aréa pré-cecal, nas zonas da ventosa oral e esophago, quasi confluindo na linha mediana do corpo.

Ovos de côr amarello castanho, operculados. Vesicula excretora em fórma de V, terminando os ramos pouco antes da zona acetabular.

HABITAT: Intestino delgado, na primeira porção, de *Rana esculenta* L., *R. temporaria* L., *Bufo calamita* Laur., *B. vulgaris* Laur., *B. variabilis* Pall.

Esta especie é susceptivel de variações de fórma dependendo do gráo de contractura do corpo, mas mantém sempre um facies caracteristico.

Dos nossos exemplares organizamos o seguinte quadro de dimensões:

Comprimento	1,2 a 1,3 mm.
Largura	0,55 a 0,57 mm.
Acetabulo	0,12 mm.
Ventosa oral	0,12 mm.
Pharynge	0,056 a 0,072 mm.
Esophago	0,12 a 0,17 mm.
Cecos	0,21 a 0,27 mm.
Bolsa do cirro	0,38 a 0,40 por 0,12 a 0,15 mm.
Testiculos	0,080 e 0,088 a 0,096 a 0,112 mm.
Ovario	0,020 por 0,048 mm.
Ovos	0,032 por 0,016 mm.

Desta especie trabalhamos no seguinte material:

6.473 B. *Rana esculenta* L. Hamburgo. Colleccionado por Travassos em 7—929.
6.474 B. Idem, idem.
6.475 B. Idem, idem.
6.476—6.480. Idem, idem.
6.481—6.485. *R. esculenta ridibunda* Pall. Saratow, Wolga. Colleccionado por Strom em 1—928.

Pleurogenoides gastroporus (Luehe, 1901).
(Est. XXIII, figs. 5—6; est. XXIV, fig. 7).

Pleurogenes gastroporus Luehe, 1901, p. 166, figs. 1—4.
Pleurogenes gastroporus Klein, 1905, p. 69.
Pleurogenes gastroporus Stafford, 1905, p. 684.
Pleurogenes gastroporus Johnston, 1912, p. 349.
Pleurogenoides gastroporus Travassos, 1921, p. 77.
Pleurogenes gastroporus Tubangi, 1928, p. 356.
Pleurogenes (Pleurogenes) gastroporus Mehra & Negi, 1928, p. 100.
Pleurogenes (Pleurogenes) gastroporus var. equalis Mehra & Negi, 1928, p. 86, pl. 3, fig. 3, pl. 8, figs. 12 e 13.

Resumimos os caracteres desta especie em quadro adeante.

HABITAT: Intestino de *Rana cyanophyctis* Schneider.
DISTR. GEOGR.: India.

Pleurogenoides sphericus (Kleine, 1905).
(Est. XXIII, fig. 8).

Pleurogenes sphaericus Klein, 1905, p. 68, pl. 5, figs. 4-5.
Pleurogenes sphaericus Johnston, 1912, p. 349.
Pleurogenoides sphaericus Travassos, 1921, p. 77.
Pleurogenes (Pleurogenes) sphaericus Mehra & Negi, 1928, p. 100.

Resumimos a descripção desta especie em quadro adeante.

HABITAT: Intestino de *Rana hexadactyla*.
PROVENIENCIA: India.

Pleurogenoides freycineti (Johnston, 1912).
(Est. XXIV, fig. 9).

Pleurogenes freycineti Johnston, 1912, p. 341, 349, figs. 16, 77-80.
Pleurogenes (Pleurogenes) freycineti Mehra & Negi, 1928, p. 100.

Resumimos os caracteres em quadro adeante.

HABITAT: Intestino delgado de *Hyla freycineti*.
DISTR. GEOGR.: Australia.

Pleurogenoides solus (Johnston, 1912).
(Est. XXIII, fig. 10).

Pleurogenes solus Johnston, 1912, p. 345, 349, fig. 12.
Pleurogenes (Pleurogenes) solus Mehra & Negi, 1928, p. 100.

Damos um resumo dos caracteres desta especie em quadro adeante:

HABITAT: Intestino de *Hylà aurea*.
DISTR. GEOGR.: Australia.

Pleurogenoides taylori (Tubangi, 1928).
(Est. XXIV, figs. 11—12).

Pleurogenes taylori Tubangi, 1928, p. 356, pl. 2, figs. 2-3.

Resumimos os caracteres desta especie em quadro adeante.

HABITAT: Intestino de *Rana vittigera* Wiegmann.
DISTR. GEOGR.: Philippinas.

Pleurogenoides stromi n. sp.
(Est. XXV, figs. 13—15).

Corpo de fórma redonda mais ou menos ovoide; cuticula revestida de espinhos. Acetabulo equatorial. Ventosa oral sub-terminal, ligeiramente menor que o acetabulo; pharynge em seguida a ventosa oral; esophago nullo; cecos curtos e transversaes, não ultrapassando a bolsa do cirro e geralmente não attingindo a zona acetabular. Póro genital lateral, na zona da ventosa oral; bolsa do cirro volumosa e attingindo a aréa acetabular; testiculos com campos afastados e zonas coincidindo, parcialmente na zona acetabular que é ultrapassada anteriormente. Ovario entre os campos testiculares e ultrapassando um pouco a zona testicular, geralmente redondo, lobado em um exemplar; utero inteiramente abaixo da zona testicular e formando um grupo de alças de cada lado do corpo; vagina musculosa, não cruzando a bolsa do cirro. Ovos operculados; vitellinos pre-cecaes, constituidos por poucos folliculos relativamente volumosos. Vesicula excretora em V, com ramos attingindo a zona testicular.

As dimensões dos nossos exemplares são referidas no quadro seguinte:

Comprimento	0,72	0,61	0,64 mm.
Largura	0,54	0,51	0,52 mm.
Acetabulo	0,16	0,16	0,16×0,18 mm.
Ventosa oral	0,14×0,16	0,14×0,16	0,14×0,16 mm.
Pharynge	0,056×0,048	0,048×0,040	0,056×0,048 mm.
Cecos	0,16 e 0,16	0,13 e 0,16	———
Bolsa do cirro	0,25×0,11	0,24×0,11	0,28×0,12 mm.
	0,13×0,13	0,14×0,12	0,12×0,09 mm.
Testiculos	0,14×0,14	0,12×0,12	0,12×0,12 mm.
	0,096×0,088	0,080×0,092	0,080×0,088 mm.
Ovario	21×10 a 13	24×13	21×10 micra.
Ovos	0,004	———	———
Espinhos cuticulares			

HABITAT: Intestino de *Rana esculenta ridibunda* Pall.
PROVENIENCIA: Kuschk-Turquestão. Colleccionado por I. Strom em 24-8-926. Catalogados sob os numeros 6.801—6.804.

Esta especie é dedicada ao nosso collega I. Strom que teve a gentileza de nos enviar um precioso material de parasitos de batrachios por elle colleccionado no oriente da Europa.

Quadro comparativo das seis especies de Pleurogenoides que não examinamos pessoalmente.

	freycineti	*solus*	*gastroporus*	*sphaericus*	*taylori*	*tener*
Comprimento	1,45 mm.	0,81 mm.	1,5 a 2,3 mm.	0,54 a 1 mm.	0,60 mm.	1,3 mm.
Largura	0,89 mm.	0,49 mm.	0,77 a 1,7 mm.	0,39 a 0,54 mm.	0,38 mm.	0,40 a 0,50 mm.
Acetabulo	0,17 mm.	0,12 mm.	0,31 mm.	0,15 mm.	0,12 a 0,15 mm.	0,17 mm.
Ventosa oral	0,20 mm.	0,11 mm.	0,28 mm.	0,14 mm.	0,13 a 0,16 mm.	0,15 mm.
Cecos	Ultrapassam a bolsa do cirro	Não ultrapassam a bolsa do cirro	Ultrapassam a bolsa do cirro	Ultrapassam a bolsa do cirro	Ultrapassam a bolsa do cirro	Ultrapassam a bolsa do cirro
Poro genital	Na zona da ventosa oral	Na zona do pharynge	Na zona da ventosa oral	Na zona da ventosa oral	Na zona da ventosa oral	Na zona da ventosa oral
Bolsa do cirro	Acima da zona acetabular	Attingindo a zona acetabular	Attingindo a zona acetabular	Attingindo a zona acetabular	Attingindo a zona acetabular	Attingindo a zona acetabular
Testiculos	Cecaes	Post-cecaes	Post-cecaes	Cecaes	Cecaes	Cecaes
Ovos	23×17 micra	20×10 micra	23×11 micra	31—35×14 micra	31×15 micra	26—28×13—14 micra

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS XXII—XXV.

ESTAMPA XXII.

Fig. 1—*Pleurogenoides tener*, segundo Looss.
Fig. 2—*Pleurogenoides medians*.—Exemplar alongado de ovario comprido.
Fig. 3—*Pleurogenoides medians*.—Exemplar novo; ovario redondo.
Fig. 4—*Pleurogenoides medians*—Exemplar contrahido.

ESTAMPA XXIII.

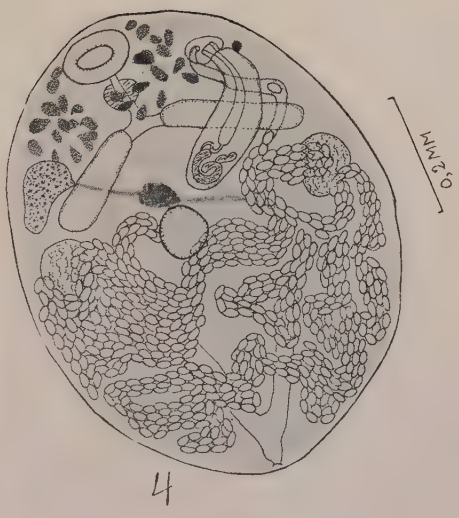
Fig. 5—*Pleurogenoides gastroporus*, face ventral, segundo Luehe.
Fig. 6—*Pleurogenoides gastroporus*, face dorsal, segundo Luehe.
Fig. 8—*Pleurogenoides sphericus*, segundo Klein.
Fig. 10—*Pleurogenoides solus*, segundo Johnston.

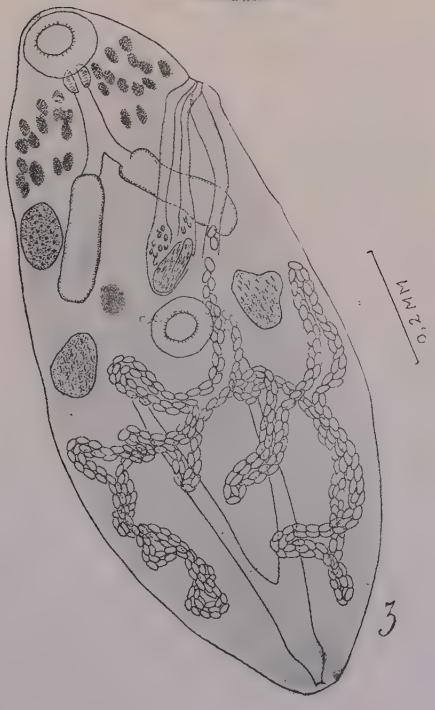
ESTAMPA XXIV.

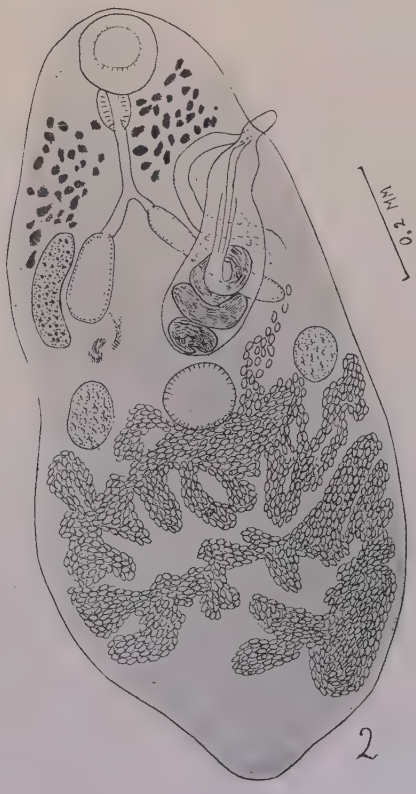
Fig. 7—*Pleurogenoides gastroporus*, segundo Mehra & Negi.
Fig. 9—*Pleurogenoides freycineti*, segundo Johnston.
Fig. 11—*Pleurogenoides taylori*, segundo Tubangi.
Fig. 12—*Pleurogenoides taylori*, systema excretor, segundo Tubangi.

ESTAMPA XXV.

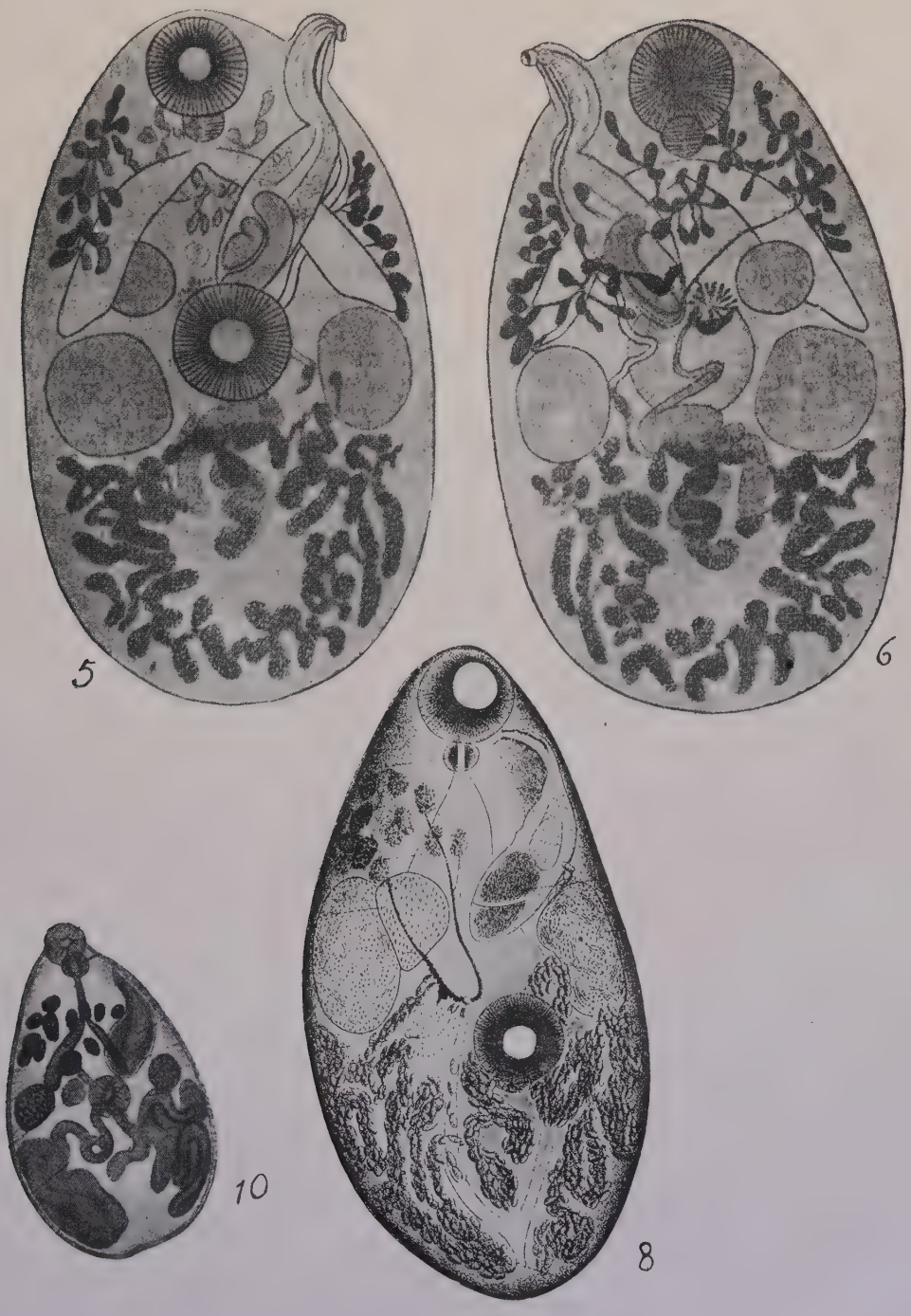
Fig. 13—*Pleurogenoides stromi*—Exemplar typo.
Figs. 14-15—*Pleurogenoides stromi*. Face dorsal e ventral dos dois exemplares.



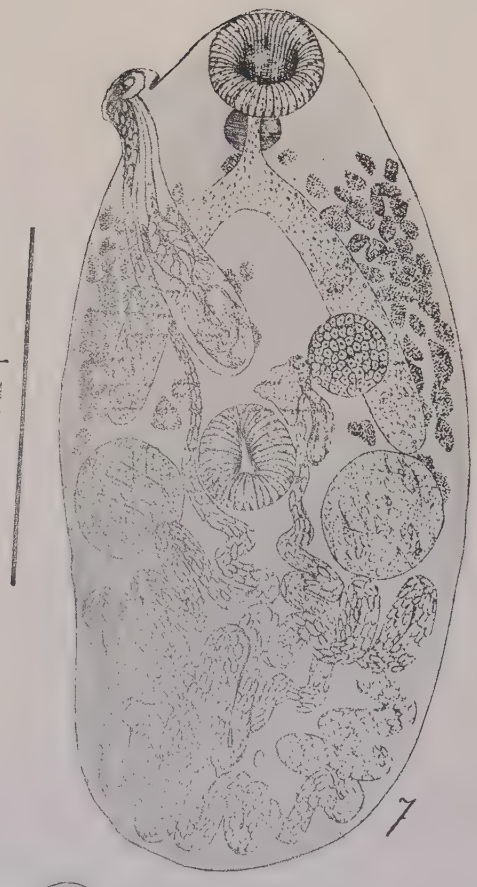


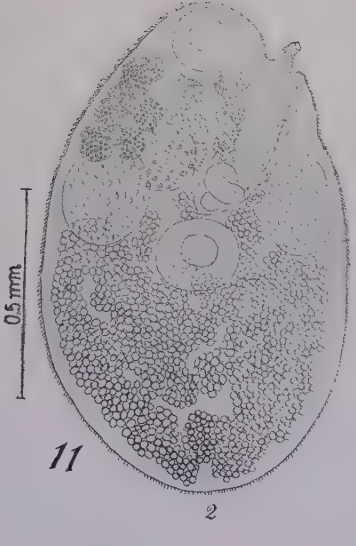


Lauro Travassos : Genero *Pleurogenoides*



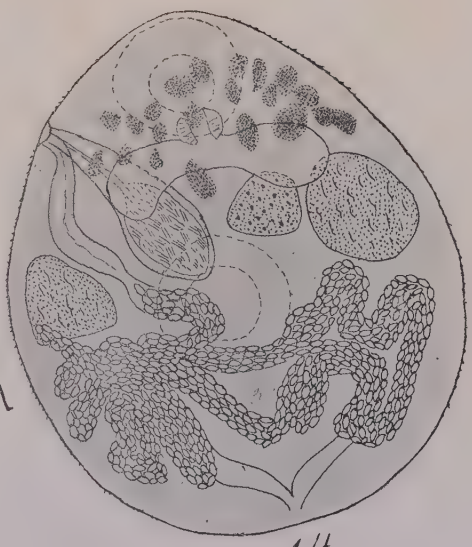
Lauro Travassos : Genero *Pleurogenoides*





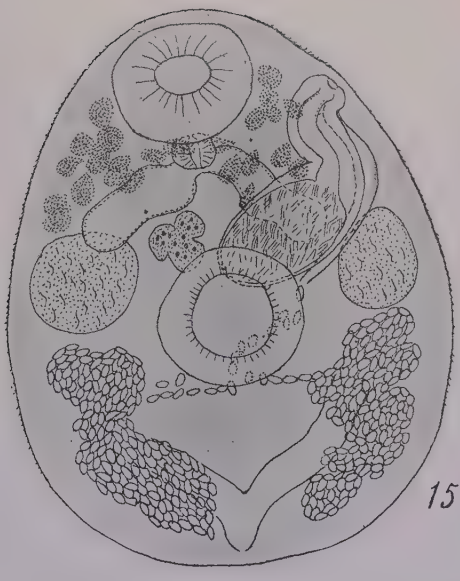
Lauro Travassos : Genero *Pleurogenoides*

13



0,2 MM.

14



15

Lauro Travassos : Genero *Pleurogenoides*

Sobre especies do genero Miamyia, subgenero Miamyia (*)

(Diptera: Culicidae)

pelo

DR. A. DA COSTA LIMA

(Com as estampas XXVI—XXVIII)

As especies do sub-genero *Miamyia* formam, no genero a que pertencem, um pequeno grupo bem caracterisado pelo aspecto da terminalia dos machos. De facto, esta se apresenta com a pinça (clasper) modificada, com os decimos esternitos providos de um tufo de cerdas mais ou menos espessas ou alongadas e os angulos lateraes do 8º uromero bem salientes ou lobulados.

Do referido subgenero foram descriptas as seguintes especies:

Dendromyia serrata Lutz, 1905 (Imprensa Medica, 13 (15, 10 de Agosto): 287).

Dendromyia serrata Theobald, 1907 (Mon. Culic., 4: 315).

Wyeomyia codiocampa Dyar & Knab, 1907 (Journ. N. Y. Ent. Soc., 15: 209).

Wyeomyia hosautos Dyar & Knab, 1907 (Journ. N. Y. Ent. Soc., 15: 211).

= *W. symmachus* Dyar & Knab, 1909 (Smiths. Misc. Colls., Quart. Iss., 52: 262), genotypo de *Miamyia.*

= *W. euethes* Dyar & Knab, 1909 (Smiths. Misc. Colls., Quart. Iss., 52: 263).

Dyar, em seu ultimo trabalho (The Mosquitoes of the Americas, 1928), considerou, no subgenero *Miamyia,* apenas 3 especies: *serrata* (Theobald), *codiocampa* (Dyar & Knab) e *hosautos* (Dyar & Knab), com a respectiva synonymia.

(*) Recebido para publicação a 12 de Julho de 1930.

Considerou tambem, na synonymia de *serrata, Dendromyia serrata* Peryassú, 1908. Ora, este collega, em seu livro (Os Culicideos do Brazil, 1908), apresentando a especie com o nome—*Dendromyia serrata* Lutz, nada mais fez que copiar a minuciosa descripção deste autor, publicada em 1905, na *Imprensa Medica*. Consequentemente, deveria ser autor da especie Lutz e não Theobald, que descreveu a sua *serrata* em 1907.

Entretanto a *serrata*, descripta por Lutz, não é, como agora verifiquei, a *serrata* descripta por Theobald. Embora ambas tenham sido encontradas por Lutz em São Paulo, são incontestavelmente duas especies differentes.

Como disse, Lutz em 1905 descreveu uma nova *Dendromyia* a qual deu o nome de *serrata*. Provavelmente, na mesma occasião, remetteu a Theobald um macho e uma femea acompanhados de uma descripção e determinados como sendo da especie *serrata*. Theobald, julgando tratar-se de um *nomen nudum* e certamente notando discordancias entre a descripção que recebera e os caracteres que observava nos especimens que a acompanhavam, redescreveu-os sob o nome: «*Dendromyia serrata* Lutz M. S. (nom. nud.)».

Quando em 1919 Dyar creou o genero *Miamyia* (Ins. Ins. Mens., 7: 116), revendo as especies que nelle deviam ser incluidas, disse o seguinte:

> «Theobald gives a rough sketch of the genitalia which in no way resembles the natural structures and reminds one of a gross caricature. They are really very similar to those of *codiocampa*, as I discover by a mount made from a specimen kindly sent by Dr. Arthur Neiva».

Entretanto, se Dyar tivesse visto a photomicrographia da terminalia da *Dendromyia serrata* estudada por Theobald, que se acha na estampa X do volume IV da grande monographia deste pesquizador, por certo não se lembraria de julgar a figura a que elle se referio (nº. 284 do mesmo volume) uma «gross caricature».

O que se observa na alludida photomicrographia encontra-se perfeitamente delineado no desenho de Theobald. E como Dyar teve o ensejo de examinar a terminalia da verdadeira *serrata* de Lutz, por ter recebido do Dr. Arthur Neiva um exemplar macho desta especie, não se comprehende porque não lhe tenha occorrido a possibilidade da especie descripta por Theobald ser differente da de Lutz, cuja descripção poude lêr no trabalho de Peryassú.

O facto é que a mencionada figura de Theobald, evidentemente desenhada vista a genitalia de perfil, reproduz o aspecto desta estructura no macho por elle examinado, e tão exactamente como a figura apresentada

por Dyar em seu livro (pl. X, fig. 29) representa a terminalia do exemplar enviado por Neiva.

Passo a expôr como cheguei a este resultado. Procurando, no Alto da Bôa Vista (Tijuca), larvas de mosquitos que se criam em internodios de bambús, C. A. Campos Seabra e eu, encontrámos abundante material de larvas que deram mosquitos com todos os caracteres da especie descripta por Theobald.

Montando a terminalia de varios machos verifiquei tambem que se apresentava com aspecto exactamente semelhante ao da genitalia figurada por Theobald, e, portanto, completamente differente do figurado por Dyar. Ulteriormente tive o ensejo de examinar na collecção do Instituto, alguns exemplares determinados como *D. serrata* Lutz e procedentes de Pindamonhangaba (S. Paulo), com a data de Fevereiro de 1905.

Taes exemplares, porém, se apresentam segundo a descripção de Lutz e a terminalia de um macho é perfeitamente semelhante a figura da terminalia da *serrata*, que se encontra no trabalho de Dyar, e que aqui reproduzimos na figura 7 (Est. XXVII).

Consequentemente a especie *serrata*, primeiramente descripta por Lutz, é a verdadeira *Miamyia* (*Miamyia*) *serrata*.

A esta correspondem as redescripções feitas por Peryassú e por Dyar, inclusive a descripção e figura da terminalia, feitas pela primeira vez por este autor.

Para a *serrata* ulteriormente descripta por Theobald e a qual tambem se referem Bonne e Bonne—Wepster em seu trabalho (Mosquitoes of Surinam, 1925), em se tratando de uma especie differente da verdadeira *serrata* Lutz, proponho o nome especifico — **Lutzi,** em homenagem ao sabio patricio que tanto tem contribuido para o conhecimento da culicidiologia brasileira.

Além dos exemplares de *M. serrata,* anteriormente referidos, encontrei tambem, numa velha collecção do Instituto, um exemplar macho de *Miamyia,* não determinado, que verifiquei ser da especie *codiocampa*. Acompanhando-o encontrei 2 pupas e a indicação: «De taquara, Petropolis».

O aspecto da terminalia do mesmo é inteiramente semelhante ao da terminalia desta especie, que se vê representado na figura 28 (estampa IX) do trabalho de Dyar.

O referido exemplar foi guardado no vidro nº. 500, a respectiva terminalia montada em lamina 1086 e as pupas na lamina 1087.

Das 4 especies de *Miamyia* mencionadas, 3 apresentam as côres do abdomen lateralmente separadas em uma linha quebrada, formando dentes, são ellas as seguintes:

Miamyia (*Miamyia*) *serrata* (Lutz, 1905); *Miamyia* (*Miamyia*) *codiocampa* (Dyar & Knab, 1907) e *Miamyia* (*Miamyia*) *Lutzi* n. sp. (=*Dendromyia serrata* Theobald, 1907, nec Lutz, 1905). Na outra especie, *Miamyia* (*Miamyia*) *hosautos* (Dyar & Knab, 1907), as cores do abdomen são nitidamente separadas em linha recta.

As 3 primeiras distinguem-se facilmente pelas partes dos tarsos médios e posteriores revestidas de escamas brancas. Em *codiocampa* sómente são brancos em baixo o 2º e 3º articulos dos tarsos posteriores.

No quadro seguinte apresento a disposição dessas partes brancas nas duas outras especies.

		M. serrata	*M. Lutzi*
	Tarsos	Brancos em baixo:	Brancos em baixo:
Machos	Medios	o terço apical do 2º, o 3º e o 4º articulos	a metade apical do 3º, e o 4º articulos
	Posteriores	a metade apical do 3º, o 4º e o 5º articulos	o 4º e o 5º articulos
Femeas	Medios	a metade apical do 2º, o 3º e o 4º articulos	sem escamas brancas em baixo
	Posteriores	o terço apical do 3º, o 4º e o 5º articulos	somente o 4º e o 5º articulos

Pela terminalia dos machos, conforme a observação dos autores que a estudaram nas especies do subgenero *Miamyia* e como tambem verifiquei, ellas ainda mais facilmente se distinguem.

Em *hosautos* (vid. Dyar, 1928) os appendices dos decimos esternitos são largos, pontudos e providos de cerdas formando um pente.

Nas outras especies taes appendices são denteados no apice e providos de uma crista com longas cerdas onduladas preapicaes.

Em *codiocampa*, no lobulo saliente do 8º uromero se inserem muitas cerdas, umas mais espessas, outras mais finas.

Em *serrata* e em *Lutzi* elle apresenta duas porções: uma provida de cerdas mais ou menos espessas, e outra na qual se inserem grandes espinhos.

Em *serrata* ha cerca de 9 espinhos relativamente finos e não recurvados na ponta.

Em *Lutzi*, ha 4 espinhos largos, foliaceos e de pontas recurvadas.

Ademais, vê-se em *M. Lutzi,* na base de cada uma das pinças (claspers) um denso tufo de longas cerdas achatadas e dobradas na ponta. Semelhante estructura não se observa em nenhuma das outras especies conhecidas do subgenero *Miamyia.*

Tambem em *Lutzi* os nonos tergitos apresentam, de cada lado, apenas 5 cerdas muito curtas, emquanto que em *serrata* ha cerca de 8 espinhos, relativamente robustos, de cada lado.

Devo tambem assignalar aqui o aspecto das cerdas que formam o tufo inserido na crista dos decimos esternitos. Em *Lutzi* taes cerdas são mais curtas que em *serrata*; dahi esta especie apresentar um tufo bem mais conspicuo que o que se vê em *Lutzi.* Para se avaliar o aspecto dos lobulos apicaes da pinça nas duas especies, v. figuras 4 e 5 (Est. XXVI).

As larvas de *M. Lutzi* apresentam o aspecto caracteristico que se pode vêr na photomicrographia 10 (Est. XXVIII).

O tegumento é densamente revestido de tufos de espinhos, sendo, porém, glabro entre esses tufos.

O oitavo segmento apresenta, de cada lado, 1 escama fortemente esclerosada (pente siphonal) provida, no bordo posterior, de 4 a 5 grandes espinhos subiguaes, de ponta romba e, entre elles, espiculos bem menores e de tamanho variavel. O indice siphonico é, approximadamente, 2,7.

Peryassú, no trabalho já citado, apresentou, na fig. 57, um desenho, feito por Castro Silva, de uma larva de *Dendromyinae.* Por elle e pela descripção dessa larva, feita a pag. 358 da mesma obra, acredito tratar-se de uma larva do subgenero *Miamyia.*

Não sendo a larva de *M. Lutzi,* pois não parece apresentar tufos de cerdas tão conspicuos e igualmente dispostos, como se póde verificar comparando com a fig. 10, e além disso, têm um indice siphonico igual a 4,61, é possivel que seja ou a larva de *M. serrata,* ainda não descripta, ou de algum outro mosquito do subgenero *Miamyia,* ainda não conhecido, ou, o que é mais provavel, já descripto, porém considerado como *Wyeomyia* ou *Dendromyia.*

Póde-se mesmo suppôr que se trate da larva de *Dendromyia arthrostigma* de Lutz, a qual, segundo elle, tambem vive em taquaras e é bem caracterisada pela pelle espinhosa e pela fórma singular dos «stylipraeorales».

A ser confirmada tal supposição, esta ultima especie passaria a ser mais uma especie de *Miamyia,* do subgenero *Miamyia.*

Pretendo continuar a fazer indagações neste sentido.

As larvas de *M. Lutzi,* apanhadas em Fevereiro, deram mosquitos desde esse mez até meiado de Julho.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS XXVI—XXVIII.

ESTAMPA XXVI.

Fig. 1—*Miamyia (Miamyia) Lutzi:* 8º uromero.
Fig. 2—*Miamyia (Miamyia) Lutzi:* terminalia do macho.
Fig. 3—*Miamyia (Miamyia) Lutzi:* lobulo do 8º uromero.
Fig. 4—*Miamyia (Miamyia) Lutzi:* peça lateral e pinça (clasper).
Fig. 5—*Miamyia (Miamyia) serrata:* peça lateral e pinça (clasper).

ESTAMPA XXVII.

Fig. 6—*Miamyia (Miamyia) serrata:* aza da femea.
Fig. 7—*Miamyia (Miamyia) serrata:* terminalia, segundo Dyar.
Fig. 8—*Miamyia (Miamyia) serrata:* aza do macho.

ESTAMPA XXVIII.

Fig. 9—*Miamyia (Miamyia) Lutzi:* cabeça (exuvia larval).
Fig. 10—*Miamyia (Miamyia) Lutzi:* exuvia larval.
Fig. 11—*Miamyia (Miamyia) Lutzi:* siphão e segmento anal (exuvia larval).

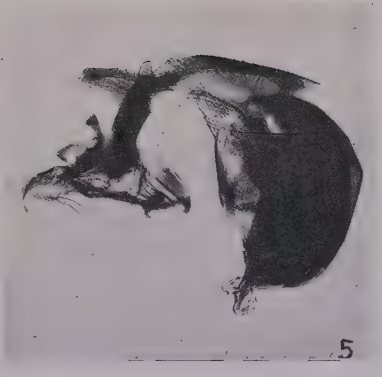


Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Sobre especies do genero *Miamyia*, subgenero *Miamyia*.

Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Sobre especies do genero *Miamyia*, subgenero *Miamyia*.

Photo J. Pinto.

Dr. Costa Lima : Sobre especies do genero *Miamyia*, subgenero *Miamya*.

Symptomas produzidos pela inhalação de vapores de formol (*)

pelo

DR. ADOLPHO LUTZ

A symptomatologia, exposta em seguida, foi observada em minha propria pessoa ao decorrer de muitos annos. A principio o agente causador não foi reconhecido porque os symptomas não apparecem logo, mas sómente depois de muitas horas de euphoria completa. Depois de intoxicações repetidas adquiri uma sensibilidade extraordinaria que certamente não existia a principio e constitue uma verdadeira idiosyncrasia. Hoje bastam poucos momentos, passados n'uma atmosphera contendo pequena quantidade de formol evaporado, para produzir symptomas accentuados depois de um intervallo bastante longo.

Comecei o uso do formol logo depois da introducção deste fixador que achei tão util que o empreguei correntemente para a fixação de preparados zoologicos e anatomicos. Durante uma viagem no Rio de São Francisco em 1915 foi usado exclusivamente por ter-se extraviada nossa provisão de alcool. Foi nesta occasião que experimentei pela primeira vez uma intoxicação intensa e aguda, sem todavia reconhecer a causa, porque os symptomas suggeriam uma infecção grippal. Foi sómente depois de varios outros accessos, geralmente menos violentos, que reconheci que os symptomas se manifestavam á noite depois de ter passado durante o dia algum tempo numa atmosphera carregada de formol. Por isso principiei a tomar precauções no laboratorio. Mas tendo um dia entrado numa casa particular onde se percebia um cheiro forte de formol, tive depois de umas dez horas outro accesso typico, forte e prolongado.

Depois desta experiencia augmentei ainda as precauções e removi do laboratorio todas as preparações conservadas em formol, o que não impediu que tivesse ainda varias outras intoxicações, adquiridas em outros laboratorios ou nos corredores e no museu do Instituto onde havia formol evaporado. Uma d'ellas foi muito intensa, revestindo o caracter de uma pyrexia a typo desconhecido, muito grave e prolongada. Devo accrescen-

(*) Communicação feita na Sociedade Brasileira de Biologia, Rio de Janeiro, sessão de 28 de Novembro, 1928.

tar que em muitos annos não soffri de qualquer molestia febril de outra natureza.

Os symptomas produzidos pelo formol evaporado são bastante variaveis dependendo da quantidade absorvida e dos principaes orgãos atacados. Alguns são de natureza banal, mas outros são bastante caracteristicos. Geralmente manifestam-se no fim do mesmo dia ou o começo da noite por uma irritação das vias respiratorias, acompanhada de espirros violentos e de uma tosse espasmodica com secreção mucosa pouco abundante. A mucosa do nariz e dos bronchios pequenos não parece muito affectada. Posto que o catarrho dure muito tempo, os escarros não se tornam opacos e amarellos como uma bronchite commum.

Outro symptoma bastante caracteristico consiste em arrepios repetidos ou continuos sem elevação bem accusada da temperatura. Ao mesmo tempo existe um entorpecimento das plantas dos pés, accompanhado de formigamento. Estes symptomas, posto que não muito intensos, desapparecem lentamente. Quando o accesso é muito forte vem accompanhado de indisposição geral e quebrantamento, dôres nevralgicas e, ás vezes, um pouco de febre. Uma vez senti dôres muito fortes nas costas, accompanhados de pyrosis intensa que durou alguns dias. Entretanto na maioria dos accessos o estomago não está affectado e o appetite se conserva.

Um effeito curioso, observado varias vezes, é a vertigem de Ménière. Manifesta-se geralmente depois de uma mudança de posição e póde chegar até a perda completa do equilibrio. Foi só muito mais tarde que descobri que este symptoma se observa tambem durante a guerra em consequencia da aspiração dos gazes toxicos n'ella empregados.

Durante o ataque mais intenso soffri tambem pela primeira vez na minha vida de uma keratite phlyctaenulosa reincidente e muito dolorosa. Tambem tive dôres fortes com tumefacção dos pés e das mãos lembrando a gota verdadeira, molestia rarissima entre nós e de que nunca soffri. Havia tambem symptomas dysentericos extremamente incommodos.

Depois de certo tempo todos os symptomas desappareceram definitivamente. Quando afastado do Instituto por bastante tempo, nunca me appareceu a symptomatologia descripta.

Actualmente ainda continua a hypersensibilidade, mas com precauções continuas tenha escapado a intoxicações severas. Entretanto mesmo os accessos mais leves duram varios dias.

Todos os symptomas observados dependem da absorpção de formol evaporado por via respiratoria sendo que a minha pelle nunca foi affectada. Não tenho observações sobre os effeitos da ingestão.

O perigo principal d'estas intoxicações profissionaes consiste na possibilidade de ignorar a sua origem e de accumular os effeitos. Dado o uso geral de formol estas intoxicações não devem ser muito raras e por isso me julguei obrigado a chamar a attenção dos collegas sobre esta symptomatologia.

Symptômes produits par inhalation des vapeurs de formol (*)

par le

DR. ADOLPHO LUTZ

La symptomatologie que ja vais exposer a été observée sur ma propre personne au cours d'un assez grand nombre d'années. Au début son étiologie ne fut pas reconnue puisque les symptômes n'apparaissent qu'après une assez longue période d'euphorie complète. Après des intoxications repétées, il s'est manifesté chez moi une sensibilité extraordinaire qui certainement n'existait point auparavant et constitue une véritable idosyncrasie. Aujourd'hui, quelques moments passées dans une atmosphère, contenant tant soit peu de formol, suffisent pour produire après um assez long intervalle des symptômes bien accentués.

J'ai commencé à employer le formol dès l'introduction de ce fixateur et je le trouvais si utile que je m'en servais couramment pour conserver des pièces anatomiques et zoologiques. Au cours d'un voyage, fait sur le Rio de S. Francisco en 1915, je l'employais exclusivement, en défaut de notre provision d'alcohol qui avait été égarée. Ce fut en cette occasion que j'éprouvais pour a première fois une intoxication aigue, sans toutefois reconnaître la cause, parce que les symptômes pouvaient s'expliquer par une infection grippale. Ce n'est qu'après plusieurs autres accès, généralement moins violents, que je me rendis compte que les symptômes apparaissaient toujours dans la nuit après avoir passé quelque temps dans une atmosphère, chargée de vapeurs de formol; en conséquence je commençais à prendre des précautions au laboratoire. Mais étant un jour entré dans une maison particulière où l'on sentait une odeur très forte, dûe à l'emploi de formol, j'éprouvai une dizaine d'heures après un autre accès typique, fort et prolongé.

Depuis ce jour je redoublais de précautions et je bannis du laboratoire toute préparation conservée au formol, ce qui ne m'empêcha pas de souffrir d'autres intoxications, acquises soit dans d'autres laboratoires, soit dans les couloirs ou dans le musée de l'institut. L'une d'elles fut très

(*) Communicacion à la Sociedade Brasileira de Biologia, Rio de Janeiro, faite en 28 de Novembre de 1928.

intense, prenant le caractère d'une maladie fébrile à type inconnu, mais grave et longue. J'observe que, depuis bien des années, je n'ai jamais eu une maladie aigue d'autre nature.

Les symptômes, produits par les vapeurs de formol, sont assez variés, dépendant de la dose absorbée et des principaux organes attaqués. Quelques-uns sont de nature banale, mais d'autres sont assez caractéristiques. Généralement vers la fin du même jour ou au commencement de la nuit suivante, apparait une irritation du gosier et de la trachée déterminant des éternûments et une toux spasmodique avec sécrétion de mucosités glaireuses peu abondantes. La muqueuse du nez et des petites bronchies, ainsi que les cordes vocales, paraissent peu affectées.

Quoique le catarrhe dure bien des jours, le mucus ne devient pas opaque et jaunâtre comme dans une bronchite ordinaire.

Un symptôme assez caractéristique consiste en frissons légers, répétés ou continuels, sans élévation bien accusée de la température. En même temps il y a un engourdissement très accusé de la plante des pieds, accompagné de fourmillement. Quoique jamais très intenses, ces symptômes disparaissent lentement. Quant l'accès est plus fort, il y a de la courbature, un malaise général, des douleurs nevralgiques et parfois un peu de fièvre. Une fois je ressentis des douleurs très intenses dans le dos qui s'irradiaient aux côtés et au bras. Ils étaient causés et accompagnés par un pyrosis très fort qui dura plusieurs jours. Néanmoins, on peut dire que généralement l'estomac n'est pas affecté et l'appétit se conserve.

Un symptôme très singulier, mais observé plusieurs fois et certainement dû au formol, est le vertige de Ménière. Il se manifeste généralement avec un changement de position et peut excepcionellement aboutir à une perte complète de l'équilibre. J'ai su seulement bien plus tard que ce symptôme s'observait aussi dans les intoxications par gaz toxiques, employés dans la guerre.

Au cours de l'attaque la plus forte, j'ai aussi souffert pour la première fois dans ma vie d'une kératite phlycténulaire récidivante et extrêmement douloureuse. Il y avait aussi des douleurs très fortes dans les mains et les pieds avec gonflure, rappelant la goutte vraie (dont je n'ai jamais souffert) et des symptômes dysentériques très pénibles. Après un certain temps tous ces symptômes disparurent complètement pour ne plus retourner et firent place à une euphorie complète, que j'observais aussi pendant quelques absences prolongées.

Même quand les symptômes sont légers et l'intoxication ne se répète pas, la guérison complète demande plus ou moins trois semaines.

Actuellement l'idiosyncrasie se maintient, mais j'ai appris a eviter les intoxications intenses.

Tous les symptômes observés résultaient de l'inhalation des vapeurs de formol et n'étaient pas dûes au contact avec la peau qui ne se montrait pas sensible aux solutions. Je n'ai pas d'observation sur l'effet de l'ingestion.

Le principal danger de ces intoxications professionnelles consiste dans la possibilité d'en ignorer la cause et d'accumuler ses effets. Étant donné l'usage si généralisé du formol, de pareilles observations ne peuvent pas être très rares et c'est pour celà que j'ai considéré mon devoir, d'attirer l'attention sur elles.

Segunda nota sobre especies do genero Eucalymnatus (*)

(Homoptera: Coccidae)

pelo

DR. A. DA COSTA LIMA

(Com as estampas XXIX—XXX)

Em 1923, em artigo sobre os coccideos do genero *Eucalymnatus*, fiz uma revisão das especies até então observadas no Brasil, descrevendo as novas especies—*Hempeli*, *Magarinosi* e *spinosus* e a variedade—*nictheroyensis* de *E. gracilis*.

Em nota addicional, no fim desse artigo, admitti a possibilidade de *E. Hempeli* ser identico a *E. chelonioides* Newstead.

Ha pouco tempo o eng. agr. E. Figueiredo trouxe-me da Bahia algumas folhas de oitiseiro (*Moquilea tomentosa*) com um *Eucalymnatus* bem interessante. Identico material, da mesma procedencia, pertencente ao Instituto Biologico de Defesa Agricola, foi-me entregue para estudo pelo Snr. Dario Mendes, preparador do Serviço de Entomologia desse Instituto.

A' primeira vista suppuz que tivesse, emfim, recebido o *Eucalymnatus chelonioides*, pois os exemplares apresentavam a principal caracteristica dessa especie, que a distingue das que lhe são affins (*E. brunfelsiae* (Hemp.), *gracilis* (Hemp.) e *E. Hempeli* Lima, e que é apresentar-se o corpo da femea, segundo Newstead:

> «completely covered with a thin, glassy test, which is devided into distinct easely separable plates, corresponding exactely with the plates in the integument of the dorsum».

Entretanto, montando em balsamo corpos de algumas femeas, livres do escudo cereo que os protegia, conclui, tendo em vista a descripção e as figuras apresentadas por Newstead para o *E. chelonioides*, ter em mãos uma especie differente desta, se bem que extremamente proxima.

(*) Recebido para publicação a 12 de Agosto de 1930.

Nas linhas que se seguem indicarei as affinidades e as principaes differenças entre *E. chelonioides* e a especie que me parece nova e que estudo com o nome de:

Eucalymnatus scutigerus sp. n.

(Est. XXIX, figs. 1—8).

Femea adulta: chata, mais ou menos asymetrica, completamente coberta por um escudo cereo, branco, relativamente espesso, perfeitamente dividido em placas. Estas devem corresponder á placas identicas do tegumento do dorso, as quaes, entretanto, são mal perceptiveis, mesmo nos exemplares corados. Apenas em um exemplar parasitado, consegui observal-as parcialmente (fig. 1).

Além de póros ciriparos microscopicos, espalhados pela face dorsal, aliás mais numerosos ao nivel das suturas que limitam as placas, ha a assignalar, de cada lado do eixo longitudinal do corpo, a presença de 7 póros ciriparos intramarginaes, relativamente grandes (comparar um desses póros—fig. 3—com a fenda estigmatica—fig. 4), lembrando póros analogos dos aleurodicineos. São elles assim distribuidos: 2 adeante da fenda estigmatica anterior (um adeante e outro atraz da antenna correspondente), 1 entre as 2 fendas estigmaticas e 4 entre a fenda estigmatica posterior e a fenda anal. Taes póros não foram assignalados por Newstead na descripção de *chelonioides*.

Antennas: vêr a fig. 2 da estampa XXIX. Fendas estigmaticas (fig. 4) apresentando 5 espinhos (ás vezes 6), 1 maior e 4 menores. Espinhos marginaes curtos e de ponta romba (vêr o que se acha representado na fig. 4).

Lobulos anaes de apice acuminado, com uma pequena cerda. O orificio anal propriamente dito, a julgar pela inserção de 10 longas cerdas annaes, fica bem distante da base dos lobulos, havendo, entre a abertura que estes encobrem e a orla de inserção das cerdas (orla anal), um processo tubuloso longitudinal e finamente estriado, bem visivel em todos exemplares, dentro do qual se acham as cerdas anaes, cujo apice attinge, ou mesmo excede um pouco, o apice dos lobulos anaes. Tal disposição não é descripta por Newstead, nem se observa nas figuras de *chelonioides*.

Dimensões dos exemplares com o escudo cereo: 8,5 mm. × 5 mm.; 8,5 mm. × 6 mm.

HOLOTYPO: Um exemplar corado e montado em balsamo na lamina 1208, da coll. entom. do Instituto Oswaldo Cruz.

PARATYPOS: Exemplares montados nas laminas 1220 e 1221 da mesma collecção, e varios especimens sobre folhas de oiti (*Moquilea tomentosa*), no vidro nº. 625 da mesma collecção e em 2 vidros da collecção entomologica do Instituto Biologico de Defesa Agricola. Todo o material procede de S. Salvador (Bahia).

Tanto o *E. scutigerus*, como o *E. chelonioides*, se distinguem facilmente do *E. hempeli*. Nesta ultima especie os exemplares são dorsal-

mente cobertos de um delgado revestimento branco, pulverulento ou floconoso, constituido por microscopicos fios de cêra, que se entrelaçam.

«Do corpo do insecto emergem tambem finissimos filamentos de cêra, um tanto alongados e espiralados, dispostos como raios ao redor do corpo.

A superficie da folha, na zona circumvisinha aos especimens, apresenta-se tambem polvilhada por uma tenue camada de poeira cérea.

Entretanto, no local em que repousa o corpo do insecto, a superficie da folha é apparentemente livre de tal secreção, contrastando, assim, com a zona que lhe fica ao redor. Isto porque os principaes póros das glandulas ciriparas cutaneas se acham localizados na face dorsal do corpo».

BIBLIOGRAPHIA

LIMA, A. da COSTA, 1923.—Nota sobre as especies do genero *Eucalymnatus* (Fam. *Coccidae,* subfam. *Coccinae*). Arch. Esc. Sup. Agric. e Med. Veter., 7:35—44, ests. 3—4.

NEWSTEAD, R. 1916.—Observations on scale-insects (Coccidae)—III. Bull. Ent. Res.: 7:369—371, fig. 20.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS XXIX—XXX

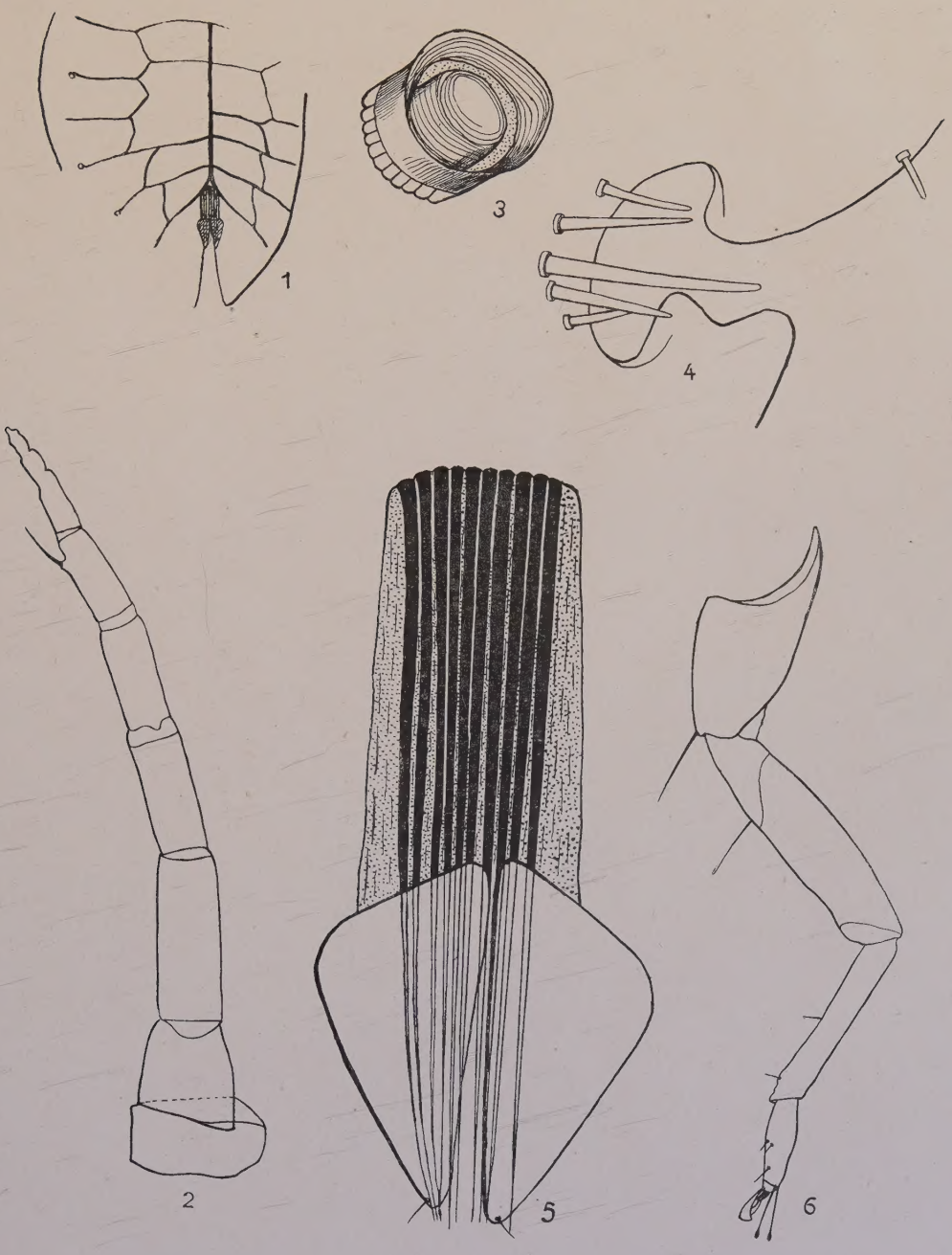
ESTAMPA XXIX.

Fig. 1 —*Eucalymnatus scutigerus*. Vista parcial do dorso.
Fig. 2 —*Eucalymnatus scutigerus*. Antenna da femea adulta.
Fig. 3 —*Eucalymnatus scutigerus*. Um dos grandes póros ciriparos.
Fig. 4 —*Eucalymnatus scutigerus*. Uma das fendas estigmaticas.
Fig. 5 —*Eucalymnatus scutigerus*. Processo, placas e cerdas anaes.
Fig. 6 —*Eucalymnatus scutigerus*. Perna do par posterior.

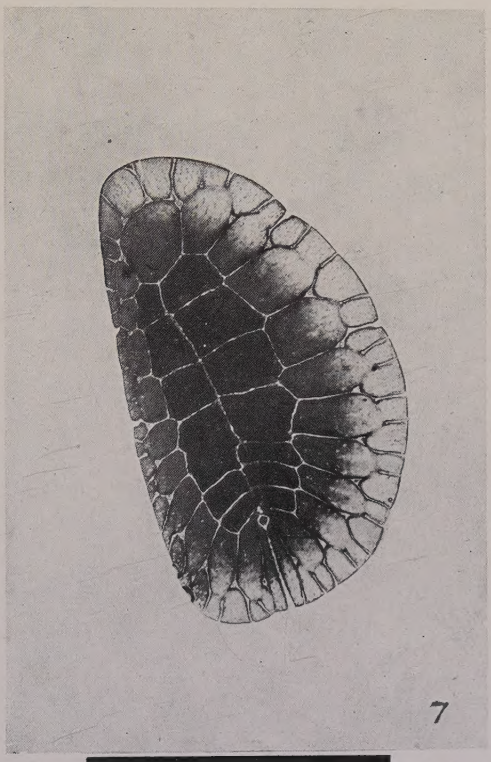
ESTAMPA XXX.

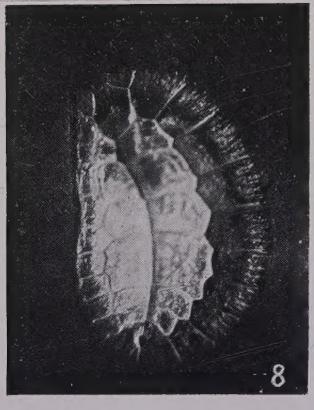
Fig. 7 —*Eucalymnatus Hempeli* Lima (× 9,4). Prep. microscopica.
Fig. 8—*Eucalymnatus scutigerus*, sp. n. (× 6,8). Vista do escudo cereo.

Typ. do Instituto Oswaldo Cruz — Rio de Janeiro — Brasil.



Dr. Costa Lima : Segunda nota sobre especies do genero *Eucalymnatus*.





Dr. Costa Lima: Segunda nota sobre especies do genero *Eucalymnatus*.